

**Spitalul Clinic de Boli Infecțioase
"Sf.Parascheva,, Iași
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2**

PROCEDURA SPECIFICĂ

**DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE
FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE**

**Cod PS-B5-01
Editia 1, Revizia 0**

**Din data de
01.05.2013**

APROBAT
Manager Tehnic
Dr Rodica Fantanaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
As.Lorena Zaborila

Elaborat:
Sef compartiment biochimie
Chim princ. Valentina Holban

**DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.**

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecțioase "Sf.Parascheva,, Iași - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 2 din 41

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânu					
Sef compartiment Biochimie	2.		Chim prin. Valentina Holban					

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 3 din 41

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 4 din 41

CUPRINS

1. SCOP SI DOMENIU DE APLICARE	5
2. DOCUMENTE DE REFERINTA	5
3.DEFINITII SI ABREVIERI	5
3.1.Definitii	5
3.2. Prescurtari	5
4.DESCRIEREA PROCEDURII	6
4.1. Semnificatie clinica	6
4.2. Principiul metodei.....	6
4.3. Resursele necesare.....	6
4.4. Produsul biologic de analizat.....	6
4.5.Descrierea activitatii.....	6
4.6.Activitati finale.....	7
4.7.Valori de referinta.....	7
5.RESPONSABILITATI.....	8
6.INREGISTRARI SI ANEXE.....	9

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 5 din 41

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această procedură de testare descrie metoda de determinare a concentrației parametrilor de biochimie din lichide biologice (ser, plasmă, urină, LCR, lichid de puncție etc.) folosind metode de determinare biochimică fotometrică (end-point, cinetic) și turbidimetrice. Prin această procedură se determină următorii analiți:

1. Glucoza 2. Uree 3. Cretinină 4. Acid uric 5. Proteine totale 6. Bilirubina totală 7. Bilirubina directă 8. Colesterol 9. Trigliceride	10. DHDL 11. DLDL 12. Calciu 13. Magneziu 14. Fier 15. ALT 16. AST 17. Amilază 18. GGT
---	---

2. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

1. SR EN ISO/CEI: 15189:2007 - Laboratoare medicale. Cerințe particulare pentru calitate și competență
2. SR EN ISO/TR 22869 - Laboratoare medicale. Ghid pentru implementarea în laboratoare a ISO 15189 : 2003
3. SR EN ISO 15190 : 2005 - Laboratoare medicale. Cerințe pentru securitate
4. ORDINUL MS 1226/2012 privind gestionarea deșeurilor rezultate din activități medicale.
5. SR ISO/TR 22869/2005 - Laboratoare medicale.Ghid pentru implementarea în laboratoare a ISO 15189:2003.
6. Manualul calității laboratorului, cod MCL-01
7. Manualul de operare al analizatorului RX Imola
8. Manualul reactivilor RX Imola „Protocol de lucru”
9. Manualul de service „RX Imola Service Manual”
- 10.Marcela Zamfirescu-Gheorgiu, Aurora Popescu, Tratat de biochimie medicală, vol.I și II, Ed. Medicală, Buc. 1991

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 6 din 41

- 11.Iulian Mincu, Nicolae Hâncu, Bolile metabolice în practica medicală, Cluj-Napoca, Ed. Dacia, 1981
- 12.Jacques Wallach, “Interpretarea testelor de diagnostic”, editie internațională, Editura Științelor Medicale
- 13.Prospect calibrator LEVEL 3 cod CAL 2351
- 14.Prospect control LEVEL 2 cod HN 1530
- 15.Prospect control LEVEL 3 cod HE 1532
- 16.Prospect control Hb A1c cod HA 3445
- 17.Prospect control Lipid control 1 cod LE 2668
- 18.Prospect control Lipid control 2 cod LE 2669
- 19.Prospect control Lipid control 3 cod LE 2670

3. DEFINIȚII SI ABREVIERI.TERMINOLOGIE

3.1. DEFINIȚII

- *Specificitatea analitică*: termen care exprimă calitativ măsura în care alte substanțe interferează cu determinarea unei substanțe potrivit unei proceduri date. Substanțele interferente pot fi endogene sau exogene.
- *Specificitatea clinică* este definită ca probabilitatea ca prin testare să se obțină un rezultat negativ în absența analitului specific.
- *Senzitivitatea clinică* este definită ca probabilitatea ca prin testare să se obțină un rezultat pozitiv în prezența analitului respectiv.
- *Acuratețea (exactitatea) măsurării*: apropierea (concordanța) dintre rezultatul unei măsurări și valoarea reală („true value”) a măsurandului.
- *Limita de detecție (sensibilitate)* : rezultat singular minim care, cu o anumită probabilitate, poate fi distins (diferențiat) de valoarea blankului. Limita definește punctul de la care analiza devine posibilă și aceasta poate fi diferită de limita inferioară a domeniului analitic determinabil.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 7 din 41

- *Calibrare*: ansamblul de operații care stabilesc în condiții specificate relația dintre valorile unei mărimi indicate de un aparat de măsură sau un sistem de măsurare
- sau dintre valorile reprezentate de o măsură sau un material de referință și valorile corespunzătoare realizate cu etaloane.
- *Validare*: confirmarea, în baza unei examinări și pe baza punerii la dispoziție a unei dovezi că cerințele particulare pentru o utilizare specială sunt satisfăcute.
- *Trasabilitatea*: o proprietate atribuită unui rezultat test sau valoare măsurată care poate fi raportată la o referință fixată, de obicei standarde naționale sau internaționale, printr-o serie continuă de ecuații (determinări) ale căror incertitudini sunt cunoscute.
- *Incertitudinea de măsurare*:
 - estimatie, caracterizând intervalul de valori în interiorul căruia se găsește valoarea adevărată a măsurandului. (VIM, ediția I, 1984)
 - limitele intervalului de valori, care, cu o anumită probabilitate include valoarea adevărată a măsurandului.

3.2. ABREVIERI

- **IRU** – unitatea de incubare a reacției
- **ASP** – unitatea probelor
- **RCU** – unitatea caruselului de reactivi
- **RPT** – unitatea de pipetare a reactivilor
- **SPT** – unitatea de pipetare a probelor
- **RPP** – unitatea de aspirare a reactivilor
- **SPP** – unitatea de aspirare a probelor
- **WPP** – unitatea de aspirare a apei
- **DTP** – unitatea de măsurare optică
- **MIX** – unitatea de agitare (mixerul)
- **WU** – unitatea de spălare
- **POW** – Power Unit
- **CNT** – Control Unit
- **MS** – multistandard

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 8 din 41

- **QC** – control de calitate
- **ALT (TGP,GPT)** – alanin aminotransferază
- **AST (TGO, GOT)** – aspartat aminotransferază
- **ALP (ALPDEA)** – fosfataza alcalină
- **HDL (DHDL)** – high density lipoproteins
- **LDL (DHDL)** – low density lipoproteins
- **γ-GT(GGT)-γ** Glutamil transferază
- **HbA1c**– hemoglobină glicozilată
- **MGXB** – magneziu (xylidyl blue)
- **RPT** – reagent precision test
- **RX WASH** – soluție de spălare
- **SALINE** – soluție salină
- **IRON** – fier
- **CHOL** – colesterol
- **GLUPAP** – glucoză (metoda cu glucozoxidază și peroxidază)
- **TRIGS** – trigliceride
- **CREA** – creatinină
- **UA** – acid uric
- **UREA** – uree
- **CALC** – calciu
- **AMY** – amilază
- **TP** – proteine totale
- **TBIL** – bilirubina totală
- **DBIL** – bilirubina directă
- **STB** – stabilitate la bord expirată

4. DESCRIEREA PROCEDURII

4.1. SEMNIFICAȚIE CLINICĂ

4.1.1 GLUCOZA

Glucoza este principala sursă de energie a organismului. Insulina produsă de celulele insulelor Langerhans facilitează intrarea glucozei în celulele țesuturilor. O

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 9 din 41

deficiență de insulină sau o diminuare a activității sale duce la o creștere a glucozei sanguine.

Valori crescute ale glicemiei (hiperglicemia) se întâlnesc în:

- diabet zaharat
- boli endocrine: acromegalie, boala Cushing, hipertiroidie, obezitate
- stres psihic, frig, sedentarism
- după administrarea unor medicamente: ACTH, diuretice, corticosteroizi (diabet steroidic), acid nalidixic, tetraciclină, tiroxină
- boli ale sistemului nervos central (tumori, encefalite), infarct miocardic, pancreatite

Valori scăzute ale glicemiei (hipoglicemie) se întâlnesc în:

- boli endocrine: hipotiroidism, boala Addison, hipopituitarism, tumoare de pancreas (insulinom)
- supradozare de insulină
- boli de ficat care scad sinteza de glucoză: hepatită cronică, ciroză, tumori, icter prin obstrucție
- după unele toxine: alcool, insecticide, plumb, tetraclorură de carbon
- inaniție, eforturi fizice mari, subnutriție, febră

4.1.2. UREE

Ureea este produsul final al metabolismului proteic, fiind sintetizată în principal în ficat. Eliminarea ei prin urină reprezintă principala cale de eliminare a nitrogenilor, fiind unul din mecanismele principale de detoxifiere a amoniacului.

O concentrație crescută de uree în plasmă apare într-un regim bogat în proteine, prin catabolism crescut al proteinelor, după o hemoragie gastro-intestinală, deshidratare, stare de șoc, insuficiență cardiacă sau tratament cu glucocorticoizi (uree prerenală).

Uremia postrenală este cauzată de obstrucția fluxului urinar, litiaza renală, tumoră sau hipertrofie de prostată. Utilizarea ureei ca indicator al funcției renale este limitată de variația concentrației sale plasmatice, consecință a factorilor non-renali.

Deoarece producția cea mai importantă de uree are loc în ficat, suferințele hepatice (hepatite cronice active, ciroze hepatice) pot duce la scăderea ureogenezei cu reducerea valorilor ureei în sânge.

4.1.3 ACID URIC

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 10 din 41

Acidul uric este o substanță azotată ce reprezintă produsul final al degradării derivaților purinici liberi: adenină, hipoxantină, guanină.

Acidul uric sanguin variază în funcție de alimentație, vârstă, sex, zonă geografică și moștenire genetică.

Când producția de acid uric depășește concentrația normală, se poate depune în jurul unor articulații producând guta sau se solidifică în căile urinare sub formă de calculi urinari de acid uric sau urați.

Perturbarea proceselor de uricogeneză și / sau a celor de eliminare a acidului uric generează hiperuricemia.

Principalele mecanisme inductoare de hiperuricemie sunt:

1) Hiperuricemia primară:

- sinteză excesivă de metaboliți
- diminuarea eliminărilor urinare ale acidului uric

2) Hiperuricemia secundară:

- producția endogenă crescută în special prin hipercatabolism al nucleotidelor tisulare, anemie hemolitică, poliglobulie, sarcoidoză, sindroame mieloproliferative, psoriazis, neoplazii, boli infecțioase cașectizante
- consum excesiv de produse din carne (în special ficat, rinichi, creier)
- diminuarea eliminărilor urinare de acid uric în boli renale cronice (insuficiență reanală, tuberculoză renală, hidronefroză)
- alcoolism cronic
- după administrarea unor medicamente: diuretice, acid salicilic, testosteron, citostatice
- Valori scăzute ale acidului uric (nu au mare semnificație în patologie) apar în:
 - subnutriția proteică
 - boli hepatice (prin sinteza scăzută)
 - după medicamente care scad sinteza sau elimină acidul uric din sânge (allopurinol, colchicină, fenilbutazonă, uralyt)

4.1.4 CREATININA

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 11 din 41

Creatinina este produsul final al catabolismului creatinei (sau fosfocreatinei). Cantitatea produsă în fiecare zi este în funcție de masa musculară. Creatinina este filtrată liber prin glomeruli (mici cantități sunt rezorbite și secretate prin tubii renali).

Determinarea concentrației de creatinină este utilizată în principal pentru evaluarea funcției renale (perfuzie renală deteriorată, pierderea funcției nefronilor) și controlul dializei renale (creșterile creatininei în sânge sunt expresia deteriorării filtratului glomerular).

Creatinina crescută în sânge exprimă boli acute sau cronice renale, cu afectarea filtrării glomerulare (glomerulonefrită acută, insuficiență reanală, distrofia musculară progresivă).

Valori crescute ale creatininei pot apărea și după unele medicamente: salicilați, barbiturice, kanamicină, vitamina C.

Valori scăzute ale creatininei se întâlnesc în hipertiroidism.

4.1.5 PROTEINE TOTALE

Proteinele totale serice sunt reprezentate de totalitatea proteinelor existente în ser: albumine, globuline, lipoproteine, enzime etc.; provin din alimente și din sinteză la nivelul ficatului din glucide și chiar din grăsimi. Excepție fac imunoglobulinele care sunt produse de plasmocitele din splină, noduli limfatici, măduvă.

Valori crescute ale proteinelor totale serice apar în:

- hipercatabolism proteic
- alimentație excesivă cu proteine
- mielom multiplu, boala lanțurilor grele, macroglobulinemia Waldenström, colagenoze
- creșteri relative prin hemoconcentrație și deshidratare (vărsături, diarree, transpirații abundente)
- după administrarea unor medicamente care fie cresc sinteza de proteine, fie falsifică reacția de dozare a heparinelor: corticosteroizi, heparină, clofibrat, insulină, morfină etc.

Valori scăzute apar în:

- deficit de aport proteic (inaniție, subnutriție, vărsături)
- tulburări de digestie și absorbție proteică

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 12 din 41

- boli hepatice, hepatită, ciroză (duc la scăderea sintezei albuminelor)
- pierderi de proteine în hemoragii, arsuri, boli de rinichi (glomerulonefrită, sindrom nefrotic)
- în hemodiluție prin consumul exagerat de lichide apare o scădere relativă
- în stări care produc un consum mare de proteine: boli febrile, hiperfuncția glandei tiroide, efort fizic intens, sarcină, alăptare, stres
- după intoxicații cu benzen, tetraclorură de carbon, după unele medicamente: anticoncepționale orale, salicilați

4.1.6 BILIRUBINA TOTALĂ

Bilirubina este produsul de catabolism al hemului hemoglobinei eliberate din eritrocite vechi sau defecte. Bilirubina trece în sânge, apoi în ficat, de unde este eliminată în bilă.

În sânge, bilirubina se găsește sub două forme:

- bilirubină indirectă sau neconjugată
- bilirubină directă sau conjugată (conjugarea se face cu acid glucuronic la nivelul microzomilor hepatocitelor)

Valorile crescute ale bilirubinemiei indirecte se găsesc în:

- distrugerea unor mari cantități de globule roșii: icterul noului născut prin izoimunizare Rh sau prin perturbări enzimatice, anemie pernicioasă, intoxicație saturnină, anemii hemolitice
- boli genetice: sindromul Crigler – Najjar, sindromul Gilbert
- după tratament cu unele medicamente se pot obține rezultate fals pozitive: anticoncepționale orale, citostatice, diazepam, eritromicină, fenilbutazonă, indometacin, paracetamol, gentamicină etc.

Valori crescute ale bilirubinei directe se întâlnesc în:

- congenital: sindromul Rotor, sindromul Dubin – Johnson
- boli hepatice: hepatită acută virală, hepatită cronică activă, ciroză, obstrucția căilor biliare
- intoxicații medicamentoase

4.1.7 BILIRUBINA DIRECTĂ

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 13 din 41

Bilirubina directă se mai numeste bilitubină conjugată deoarece este reprezentată de acea fracție de bilirubină care la nivel hepatic este conjugată cu acid glucuronic pentru a putea fi apoi excretată prin canalele biliare în intestin.Reprezintă forma de excreție a bilirubinei totale.

Orice obstrucție a canalelor biliare este însoțită de creșteri marcate ale bilirubinei directe în sânge.

Măsurarea bilirubinei , compus organic format in timpul distrugerii normale sau anormale a eritrocitelor, este folosită in diagnosticarea și tratamentul in tulburările hemolitice, hematologice si metabolice ale ficatului, cum ar fi hepatitele sau blocaj biliar.

4.1.8 COLESTEROL

Colesterolul este o substanță lipoidă izoprenică (este un sterol de greutate moleculară mare care conține structura unui ciclopentanofenantren).

Colesterolul este în parte absorbit din alimente, dar el este și sintetizat de ficat și de alte țesuturi.

Colesterolul este transportat în plasmă de lipoproteine; este secretat ca atare în bilă sau după o transformare de acizi biliari.

Creșterea concentrației colesterolului în sânge peste limitele normale contribuie la formarea ateromatozei care, în final, este responsabilă de bolile cardiovasculare (infarct miocardic, HTA, accidente vasculare cerebrale).

Colesterolul are următoarele funcții:

- este element constitutiv al tuturor membranelor celulare
- este precursor al sintezei hormonilor steroizi (corticosuprarenalieni și sexuali), acizilor biliari și sărurilor biliare și al vitaminei D.
- este constituint al lipoproteinelor plasmatic
- Valori crescute ale colesterolului (hipercolesteromia) se întâlnesc în următoarele cazuri:
 - după o alimentație bogată în colesterol
 - boli genetice care favorizează sinteza crescută de colesterol și din alte substanțe decât grasimile
 - insuficiența tiroidiană (mixedem)

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 14 din 41

- sindrom nefrotic, ictere colostatice, sarcină, diabet zaharat, obezitate, alcoolism, gută
- după anumite medicamente: corticosteroizi, salicilați, fenotiazine, anticoncepționale orale, vitamina A, vitamina D

Valori scăzute ale colesterolului (hipocolesteromia) se întâlnesc în:

- subnutriție, eforturi fizice mari, inaniție
- boli hepatice (hepatite cronice, ciroză) – în care scade sinteza de colesterol
- hiperfuncția glandei tiroide
- boli febrile (pneumonie, febră tifoidă)
- boli cașectizante (TBC)
- hipocolesterolemie esențială
- boli de sânge: hemofilie, anemie Biermer
- după unele medicamente: estrogeni, EDTA, tiroidă, tiroxină, heparină, kanamicină

4.1.9 HDL-COLESTEROL DIRECT

Scăderea concentrației de HDL-colesterol în plasmă este corelată cu ateroscleroza, baza infarctului miocardic și a accidentelor cerebrovasculare.

HDL-colesterolul se află în concentrație scăzută în următoarele afecțiuni:

- boli hepatocelulare acute și cronice
- malnutriție severă
- diabet
- anemie cronică
- stres acut, fumat, anumite medicamente

Urmărirea valorilor de HDL-colesterol și LDL-colesterol este indicată pentru identificarea riscului de boli coronare.

4.1.10 LDL-COLESTEROL DIRECT

LDL - colesterolul este sintetizat în ficat sub acțiunea enzimelor lipolitice. În celulele parenchimului hepatic există receptori specifici care facilitează eliminarea LDL –

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 15 din 41

colesterolului din plasmă. Concentrația de LDL – colesterol este cel mai important factor în producerea aterosclerozei coronariene.

Determinarea cu maximă acuratețe a LDL – colesterolului este de importanță vitală în terapia hipolipemiantă pentru a preveni sau reduce progresia aterosclerozei și a evita ruperea plăcilor ateromatoase.

4.1.11 TRIGLICERIDE

Trigliceridele sunt esteri ai acizilor grași cu glicerolul care provin din alimentație sau sunt sintetizați de ficat.

Trigliceridele sunt transportate în plasmă de lipoproteine. Sunt folosite de țesutul adipos, mușchi, și alte țesuturi. Prima lor funcție este de a furniza energie celulelor.

În organismul uman trigliceridele intră în constituția lipoproteinelor cu densitate foarte mică: VLDL (59%), chilomicroni (81 – 88%) și HDL-colesterol (3%).

Valori crescute ale trigliceridelor se întâlnesc în:

- boli hepatice
- diabet zaharat și obezitate
- alimentație bogată în grăsimi, zahăr, după consumul de alcool
- hipotiroidie
- sindrom nefrotic
- obstrucția căilor biliare
- boli genetice – hiperlipoproteinemia familială tip IV sau V
- sarcină, după utilizarea anticoncepționalelor orale

Valori scăzute ale trigliceridelor se întâlnesc în:

- neoplasme
- hipertiroidie
- infecții cronice

4.1.12 CALCIU TOTAL

Din totalul calciului sanguin, circa 45% este legat de proteine, iar restul este liber și se numește calciu ionic.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 16 din 41

Calciul este cationul cel mai răspândit din organism, localizat în os (99%), țesuturile moi și lichidul extracelular. Concentrația sa plasmatică este reglată de hormonul paratiroidian, vitamina D și calcitonină.

Ionul de calciu este important în transmiterea impulsului nervos, în menținerea contractilității normale a mușchilor, ca și cofactor în anumite reacții enzimatice, în coagularea sângelui, în formarea substanței osoase alături de fosfor.

Hipercalcemia poate fi dată de:

- intoxicația cu vitamina D
- insuficiență renală accentuată
- tumori ale glandelor paratiroide (hiperparatiroidism)
- imobilizare prelungită la pat
- tumori ale oaselor și ficatului, mielom, boala Paget
- alte boli: sarcoidoză, tireotoxicoză, carcinoame metastatice osoase, TBC, feocrocromocitom

Hipocalcemia se întâlnește în:

- hipoparatiroidism primar sau secundar
- pseudohipoparatiroidism (pierderea sensibilității țesuturilor la parathormon)
- carențe minerale: osteomalacie, rahitism
- insuficiență renală cronică și nefroză
- deficiență de vitamina D, malnutriție sau malabsorbție intestinală
- tulburări electrolitice: hipokaliemie
- alte boli: ciroză hepatică, pancreatită acută, tetanie, spasmofilie
- postmedicamentos: corticosteroizi, gentamicină, heparină

Variațiile calcemiei ionice le urmează pe cele ale calcemiei totale.

4.1.13 MAGNEZIU

Magneziul este unul dintre cei mai abundenți cationi din organism. Este stocat în principal în os, dar și secrețiile biliare și gastrice conțin cantități semnificative de magneziu.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 17 din 41

Magneziul este un cofactor esențial pentru enzimele implicate în respirația celulară, în glicoliză și în transportul transmembranar al altor cationi. Are rol în buna funcționare a sistemului nervos central și în contracția musculară.

Rinichii sunt principalele organe implicate în homeostazia magneziului.

Valori crescute ale magneziului (hipermagneziemie) se întâlnesc în:

- insuficiență renală cronică decompensată
- diabet zaharat
- stări de deshidratare
- boala Addison
- boli hepatice: ciroză, icter prin obstrucție
- după medicamente pe bază de magneziu: sulfat de magneziu, antiacide (dicarbocalm, ulcerotrat, trisilicalm).

Valori scăute ale magneziului (hipomagneziemie) se întâlnesc în:

- aport insuficient alimentar sau prin tulburări de absorbție alimentară
- pierderi de magneziu pe cale intestinală (vărsături, diaree) sau urinară (după diuretice)
- alcoolism (eliminarea crescută de magneziu)
- hipoparatiroidism, mixedem
- tetanie normocalcemică
- după unele medicamente: insulină, edurin, calciu

4.1.15 FIER

Fierul este prezent în diferite compartimente ale organismului: hemoglobina, mioglobina, țesuturi (în principal în ficat, splină, măduvă osoasă). Doar 0,1% din totalul fierului din organism este prezent în plasmă. Concentrația sa variază din numeroase cauze fiziologice sau patologice.

Importanța fierului constă în sinteza hemoglobinei și a unor enzime celulare.

Valori crescute ale fierului se întâlnesc în:

- hemocromatoză, ciroză, hepatită acută, nefrită, intoxicație cu plumb
- transfuzii repetate de sânge, distrugeri de eritrocite (anemie hemolitică)

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 18 din 41

- după unele medicamente: anticoncepționale orale, preparate din fier, ampicilină, penicilină

Valori scăzute ale fierului se întâlnesc în:

- aport alimentar scăzut sau absorbție scăzută
- la femei în cursul sarcinii, nașterii, alăptării
- infecții acute și cronice
- pierderi de sânge: hemoragii acute sau cronice
- alte boli: lupus eritematos, sindrom nefrotic, ciroză hepatică

4.1.16 HEMOGLOBINA GLICOZILATĂ

Determinările de hemoglobină glicozilată sunt folosite pentru monitorizarea pe termen lung a diabetului.

4.1.17 ALT

ALT este prezentă în diferite țesuturi, dar în cea mai mare concentrație este în ficat și rinichi. În ser, concentrația de ALT este crescută în hepatite și alte forme de boli hepatice asociate cu necroza: mononucleoză infecțioasă, colestoză, ciroză, tumori hepatice, delirum tremens și după administrarea de diferite medicamente cum sunt opiaceele, salicilații, ampicilina. Concentrația de ALT în ser poate fi crescută și în boli ale mușchilor cardiac și scheletici.

4.1.18 AST

AST se găsește în cea mai concentrație în ficat și în mușchiul cardiac, dar este în cantitate mare și în mușchii scheletici, rinichi și pancreas. Concentrația de AST în ser este crescută în hepatite și alte forme de boli hepatice asociate cu necroză: mononucleoză infecțioasă, colestoză, ciroză, tumori hepatice, delirum tremens și după administrarea de diferite medicamente. Concentrația de AST în ser este de asemenea crescută după infarct de miocard, în caz de boli ale mușchilor scheletici (cu distrofie musculară progresivă), pancreatite acute, boli de sânge.

4.1.19 FOSFATAZA ALCALINĂ

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRIILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 19 din 41

Fosfataza alcalină din ser provine din os, ficat și intestinul subțire. Fosfataza alcalină are valori crescute în ser în următoarele afecțiuni:

- afecțiuni hepatice: hepatită virală acută, colestoza extrahepatică (litiază, tumori), tumori hepatice, granulomatoze hepatice,
- afecțiuni osoase: cancer osos, metastaze osoase, boala Paget, rahitism, osteomalacie, fracturi, osteomielită,
- hiperfuncția glandei paratiroide,
- insuficiență renală cronică,
- boli ale intestinului.

4.1.20 AMILAZA

Amilaza este eterogenă și prezentă în ser sub forma a două izoenzime : salivară și pancreatică. Variații patologice cu importanță diagnostică se întâlnesc în pancreatita acută și cronică, cancer de pancreas, parotidite, litiaza biliară, creșteri nespecifice în peritonite și sarcină extrauterină perforată. Valorile crescute în ser sunt însoțite de creșteri ale activității amilazei urinare.

4.1.21 GGT

GGT este sintetizată de membranele și citoplasma celulelor epitelialelor căilor biliare, prostatei, celulelor tubulare renale și ale căilor excretorii pancreatice. Are valori crescute în ser în cazul afecțiunilor hepatice, colestoze, tumori hepatice, pancreatite.

DESCRIEREA METODELOR DE ANALIZĂ FOLOSITE (principiul metodei)

4.2.1 Determinarea glucozei în lichide biologice (ser, urină, C.S.F.) o realizăm prin 2 metode:

a) Metoda GOD/PAP – reacție colorimetrică

Prin metoda GOD/PAP glucoza este măsurată după oxidarea ei enzimatică în prezența glucozoxidazei, cu formare de peroxid. Peroxidul format reacționează cu 4-aminofenazonă și fenol sub acțiunea peroxidazei, rezultă un compus colorat în roșu

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 20 din 41

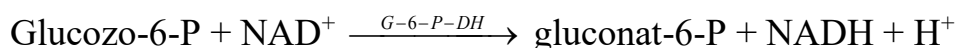
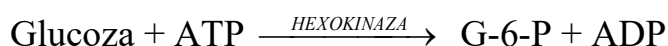
violet, quinoneimina, a cărei culoare este direct proporțională cu concentrația glucozei (măsurată la 505nm).

Linearitatea reacției este asigurată până la o concentrație a glucozei de 630 mg/dl, iar în cazul rerun-ului cu diluție, până la 6300mg/dl.

Precizia metodei: concentrația minimă de glucoză măsurată prin această metodă este de 9.55 mg/dl.

b) Metoda cu hexokinază – reacție cinetică

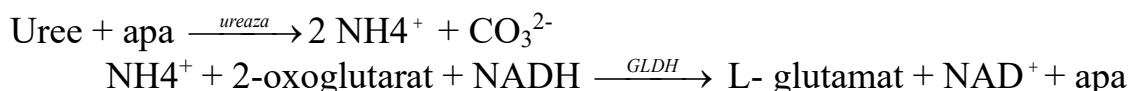
Măsurăm glucoza în lichide biologice, prin metoda enzimatică cu hexokinază, utilizând 2 enzime: hexokinaza și glucozo-6-P-dehidrogenaza, iar măsurarea are loc în UV (304nm)



Modificarea absorbanței datorată creșterii concentrației de NADH în detrimentul NAD, este direct proporțională cu concentrația de glucoză măsurată.

4.2.2 Ureea

Ureea o determinăm prin metoda cinetică enzimatică cu urează, în UV. Ureea este hidrolizată în prezența apei de către urează la amoniu și CO₂. Amoniu produs se combină cu α-cetoglutaratul și NAHD-ul în prezența glutamatdehidrogenazei, cu formarea de glutamat și NAD. Modificarea absorbanței datorită formării de NAD în locul NAHD-ului consumat este proporțională cu concentrația de uree din lichidul biologic (ser sau plasma). Pentru dozări de uree în urină se diluează urina (colectată fără aditivi, timp de 24 ore) 1:20, cu ser fiziologic și se multiplica rezultatul cu 21.



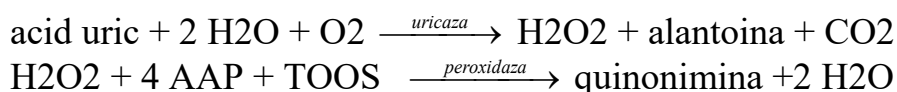
Linearitatea reacției este de până la 204mg/dl și de 760mg/dl în cazurile de rerun cu diluție.

Minimul de detecție în această metodă este de 1.46mmol/l.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 21 din 41

4.2.3 Acid uric

Metoda utilizată de noi pentru măsurarea acidului uric în ser sau plasma este enzimatică / colorimetrică. Acidul uric este convertit de către uricază la alantoină și peroxid. Aceasta, sub influența catalitică a peroxidazei, formează cu 4-aminofenazonă un compus colorat în roșu violet, quinonimina, a cărei culoare este direct proporțională cu concentrația de acid uric măsurată.



Linearitatea reacției este asigurată până la o concentrație de 23.1 mg/dl, iar în caz de rerun (cu diluție) până la 38.5mg/dl.

Concentrația minimă detectabilă este < 36 μmol/l.

4.2.4 Creatinina

Creatinina o determinăm prin metoda colorimetrică, după următorul principiu: creatinina cu acidul picric în mediu alcalin cu formarea unui compus colorat a cărui rată de formare este măsurată și este direct proporțională cu concentrația de creatinină din lichidul biologic de analizat (ser, plasmă, urina). Pentru măsurătorile de creatinină din urină se procedează la o diluție de 1+9 cu apă distilată și se ia în calcul factorul de diluție.

Linearitatea este asigurată până la o concentrație de 22mg/dl în ser și de 900 mg/dl în urină. În caz de rerun linearitatea este până la 60.5 mg/dl în ser și de 24.75 g/l în urină.

Concentrația minimă detectabilă prin această metodă este de 27 μmol/l.

Clearance de creatinină se calculează după formula:
(mg creat./dl urina x ml urina 24h)/(mg creat./dl ser x 1440)ml/min.

4.2.5 Proteinele totale

Proteinele totale le dozăm prin metoda colorimetrică cu reactivul biuret. Proteinele formează în mediu alcalin cu ionii de cupru un compus colorat al cărui intensitate de culoare este direct proporțională cu concentrația de proteine măsurată în ser sau plasmă.

Linearitatea reacției este până la 112g/l proteine, iar în caz de rerun până la 244 g/l. Concentrația minimă detectabilă prin această metodă este de <6.42g/l.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 22 din 41

4.2.6 Bilirubina totală o dozăm prin metoda colorimetrică Jendrassik Grog (1938). În prezența cafeinei bilirubina totală este eliberată de pe molecula de albumină și reacționează cu acidul sulfanilic diazotat cu formarea unui compus colorat a cărui intensitate de culoare este direct proporțională cu bilirubina totală. Evităm măsurarea pe probe hemolizate deoarece interferă cu analiza.

Linearitatea reacției este până la 25mg/dl, în caz de rerun până la 117mg/dl.
Concentrația minimă detectabilă este de 1.5 $\mu\text{mol/l}$.

4.2.7 Bilirubina directă

Determinarea bilirubinei conjugate(directe) se bazează pe capacitatea bilirubinei directe de a reacționa direct cu acidul sulfanilic și reactivul diazo (fără accelerator). Se formează un compus colorat în roșu, intensitatea culorii fiind direct proporțională cu concentrația bilirubinei directe în ser.

4.2.8 Colesterolul se determină prin metoda enzimatică endpoint. Esterii de colesterol sunt hidrolizați sub acțiunea colesterolesterazei și se formează colesterolul și acizi grași. Colesteroxidaza acționează asupra colesterolului format și rezultă colestonă și peroxid. Produsul final de reacție este quinonimina, formată sub acțiunea preoxidazei asupra peroxidului de hidrogen, în prezența aminoantipirinei și a fenolului. Intensitatea culorii quinoneiminei formate este direct proporțională cu concentrația colesterolului din probă.

Reacția este *liniară* până la o concentrație de 643 mg/dl, iar concentrația minimă detectabilă este de 0.43 mmol/l.

4.2.9 HDL – colesterolul îl determinăm prin metoda directă, fără pretratarea probei, metodă ce ne asigură o mai mare acuratețe a rezultatelor.

Determinarea constă în 2 reacții distincte:

1. Eliminarea din particulele lipoproteice a chilomicronilor, VLDL-c, LDL-c sub acțiunea colesterolesterazei, colesteroxidazei și a catalazei (care acționează asupra peroxidului de hidrogen format în urma acțiunii primelor 2 enzime) cu formare de H_2O și O_2 .
2. Măsurarea specifică a HDL-c, după eliberarea lui din particulele lipoproteice sub acțiunea unui detergent din reactivul R2; primele 2 reacții enzimatice sunt identice cu cele din prima etapă, dar asupra peroxidului de hidrogen acționează peroxidaza cu formare de compus colorat care apoi este măsurat, fiind direct proporțional cu

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 23 din 41

concentrația HDL din probă; în reacția a doua acțiunea catalazei este inhibată de către azida de sodiu din reactivul R2.

Reacția este *lineară* până la 144mg/dl, în caz de rerun până la 216 mg/dl.

Concentrația minimă detectabilă de HDL prin această metodă este de 1.43 mg/dl.

4.2.10 LDL – colesterolul îl dozăm printr-o metodă directă similară celei prin care se măsoara HDL-colesterolul. Reacția se desfășoară în 2 etape succesive:

- A. Eliminarea chilomicronilor, VLDL, HDL prin acțiunea colesterolesterazei, a colesteroxidazei și catalazei.
- B. Măsurarea specifică LDL-colesterolului după eliberarea lui din particulele lipoproteice sub acțiunea unui detergent din reactivul R2.

În etapa a doua a reacției acțiunea catalazei este inhibată de către azida de sodiu din reactivul R2.

Reacția este *lineară* până la o concentrație de LDL-colesterol de 860mg/dl, iar în caz de rerun până la 8600mg/dl.

Concentrația minimă detectabilă prin această metodă este de 7.35 mg/dl.

4.2.11 Trigliceridele le dozăm prin metoda colorimetrică GPO-PAP, după o hidroliză enzimatică a trigliceridelor cu lipază. Produsul final de reacție, măsurabil și proporțional cu concentrația de trigliceride din probă este quinoneimina rezultată în urma acțiunii peroxidazei asupra H₂O₂ format în primele reacții de hidroliză, în prezența 4-aminofenazonei.

Prin hidroliza trigliceridelor se formează glicerol liber, dar glicerolul liber aflat în probă va fi la fel metabolizat și, în consecință, va crește fals rezultatul pentru concentrația trigliceridelor. De aceea, se aplică o corecție a rezultatului prin scăderea a 10mg/dl din rezultatul obținut pentru trigliceride.

Reacția este *lineară* până la concentrația trigliceridelor de 1133 mg/dl, iar concentrația minimă detectabilă este de 11.5 mg/dl.

4.2.12 Calciu total îl dozăm prin metoda colorimetrică cu orto-crezolfaleină. Ionii de calciu din ser formează în mediu alcalin cu orto-crezolfaleina un complex colorat a cărui intensitate a culorii este direct proporțională cu concentrația calciului din probă.

Reacția este *liniară* până la o concentrație de 20.04mg/dl, în caz de rerun până la 46.76 mg/dl. Concentrația minimă detectabilă prin această metodă este 0.19mmol/l.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 24 din 41

4.2.14 Magneziul îl dozăm prin metoda colorimetrică cu xylidylblue în ser, plasmă și urină. Ionii de magneziu reacționează cu xylidylblue în mediu alcalin rezultând un compus colorat în roșu măsurat la 510 nm, direct proporțional cu concentrația ionilor de magneziu.

Interferența calciului este exclusă prin complexarea sa cu EGTA din reactiv.

Magneziul se măsoară în ser, plasmă sau urină. Urina colectată din 24 ore poate conține în sediment săruri de magneziu. Înaintea măsurării de magneziu în urină se adaugă o picătură de HCl (pH3-4) pentru a dizolva sedimentul urinar și a elibera magneziul, apoi se face o diluție de 1 + 4 cu apă distilată; rezultatul se înmulțește cu 5.

Nota : fluctuațiile în valorile blankului > 10 % se pot datora contaminării cu magneziu a echipamentului.

Metoda este lineară până la o concentrație de 5, 59 mg/dl, iar în caz de diluție și rerun, până la 14, 0 mg/dl.

Concentrația minimă de magneziu detectabilă cu această metodă este de <0.29mmol/l.

4.2.15 Fierul îl dozăm printr-o metodă colorimetrică cu Ferrozine. Ionul feric din ser este disociat de pe proteina transportoare, transferina, în mediu acid și, simultan, redus la ionul feros. Acesta reacționează cu ferozina din reactivul cromogenic și formează un compus colorat, care are maximum de absorbantă la 546 nm și a cărei intensitate de culoare este direct proporțională cu concentrația de fier măsurată.

Evităm dozarea fierului pe seruri hemolizate și pe probele de plasmă (concentrații mici de EDTA pot da rezultate fals scăzute).

Reacția este lineară până la concentrația de 198 μmol/l, în caz de rerun până la 398 μmol/l.

Concentrația minimă detectabilă de Fe cu această metodă este < 2.0μmol/l.

4.2.16 Hemoglobina glicozilată o determinăm ca % din Hb totală, în sânge integral printr-o metodă imunologică, utilizând anticorpi monoclonali de șoarece anti HbA1c . Măsurăm atât concentrația Hb totale, cât și a HbA1c , apoi calculăm % HbA1c din Hb totală.

În prima etapă are loc pretratarea probei de sânge total cu reactivul denaturant care lizează eritrocitele eliberând Hb prin acțiunea unei enzime.

În următoarea etapă măsurăm Hb totală cu Reactivul TOTAL Hb; aceasta implică conversia tuturor derivatelor de Hb în hematină în soluție alcalină, care este măsurată la 600 nm.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 25 din 41

Măsurarea HbA1c se bazează pe o reacție de aglutinare cu latex. Reactivul aglutinator , care constă într-un polimer sintetic ce conține multiple copii ale porțiunii imunoreactive a HbA1c , produce aglutinarea particulelor de latex legate cu anticorpi monoclonali anti HbA1c.

În absența HbA1c în probă, aglutinatorul din R2 aglutinează particulele de anticorpi anti HbA1c din R1, aglutinare care produce o creștere a absorbanței.

În prezența HbA1c în probă, rata de aglutinare scade pentru că HbA1c competează cu aglutinatorul pentru locurile de legare a anticorpilor de pe latex. De aceea, creșterea absorbantei este invers proporțională cu concentrația HbA1c în probă.

Creșterea absorbantei datorată aglutinării o măsurăm la 700 nm, iar concentrația de HbA1c o calculăm pe o curbă de calibrare.

Pretratarea probei de sânge total : într-o eprubetă pipetăm 400 µl reactiv de denaturare cu 10 µl sânge integral, agităm evitând formarea spumei, incubăm minim 5 minute la temperatura camerei înainte de determinare.

Calculul : %HbA1c = [HbA1c (g/dl)/THb (g/dl)] x 10

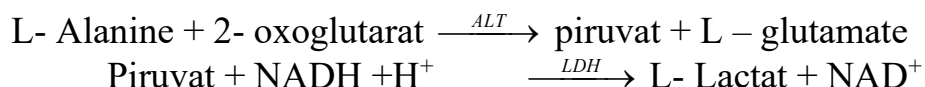
Interferențe : Pacienții cu valori mici de Hb (anemii severe) sau cu valori foarte mari nu sunt monitorizați prin această metodă. De asemenea, forme patologice de Hb (variante S, C sau F) pot să dea valori eronate de HbA1c.

Linearitatea reacției este de până la 23 g/dl Hb totală, iar intervalul de determinare pentru HbA1c este de 0,25 – 2,4 g/dl.

Concentrația minimă de HbA1c detectabilă este de 0,25 g/dl

4.2.17 ALT(GPT /alaninaminotransferaza) o dozăm în UV, metodă standardizată după IFCC.

ALT catalizează transferul grupării amino de pe un aminoacid (alanină) pe alt aminoacid (alfa – oxoglutarat) în prezența NADH, după coenzimă. Scăderea absorbantei la 340 nm, datorată consumului de NADH și formării NAD este invers proporțională cu activitatea enzimei.



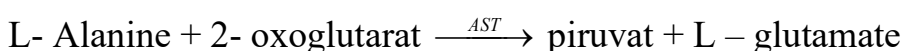
Metoda este *lineară* până la 600 U/l, în caz de rerun, până la 2400 U/l. Activitatea minimă detectabilă a ALT este 10 U/l.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 26 din 41

4.2.18 AST (GOT/aspartataminotransferază).

Metoda utilizată (în UV) este optimizată după recomandarea IFCC.

AST catalizează transferul grupării amino de pe acid aspartic pe α -oxoglutarat, în prezența coenzimei NADH. Consumul NADH determină o scădere a absorbanței la 340 nm, invers proporțional cu activitatea AST.



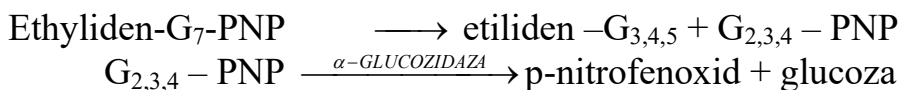
Linearitatea reacției este de până la 600 U/l, în caz de rerun , de 2400 U/l, iar activitatea minimă detectabilă a AST prin această metodă este de 12 U/l.

4.2.19 ALP (Fosfataza alcalina) o determinăm prin metoda cu dietanol amina optimizată la recomandarea IFCC. ALP din proba de analizat hidrolizează p – nitrofenilfosfatul (ca substrat) din reactiv, cu formare de *p –nitrofenol*, de culoare galbenă (măsurat la 405 nm). Intensitatea culorii este direct proporțională cu activitatea ALP.

Linearitatea reacției este de până la 800 U/l, în caz de rerun până la 3200 U/l. Activitatea minimă detectabilă este de 25 U/l.

4.2.20 Amilaza o determinăm prin metoda colorimetrică în care substratul enzimei este p-nitrofenilmaltoheptazida. Substratul din reactiv este clivat de către enzima din proba de analizat, cu formare de produși de clivare mici, cuplați cu pNP (paranitrofenilfosfat). Asupra acestor compuși acționează α -glucozidază cu formare de glucoză și pNP. pNP (de culoare galbenă) este măsurat la 405 nm, rata de formare și deci creșterea absorbantei este direct proporțională cu creșterea activității enzimei din proba de analizat.

α - Glucozidaza



Reacția este *lineară* până la 1200 U/l, în caz de rerun, 4200 U/l.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 27 din 41

4.2.21 GGT îl determinăm printr-o metodă optimizată după Comitetul European pentru Laborator Clinic Standard (ECCLS).

Substratul enzimei este 2 - □□- glutamyl – 3 – carboxi – 4 – nitroanilidă care în prezența glycilglycinei este convertit de către enzima □GT din proba, cu formare de p – nitroanilina, care este un compus colorat în galben. Cresterea D.O. pe minut, dată de acest compus colorat este direct proporțională cu activitatea □GT din probă.

Reacția este *lineară* până la 1280 U/l, în caz de rerun 3200 U/l.

Activitatea minimă detectabilă a □GT prin aceasta metoda este de 8 U/l.

4.3 RESURSE NECESARE

4.3.1 Echipamente și accesorii

4.3.1.1 Echipamente

Analizor automat de biochimie Rx Imola

Analizor RX Imola seria 7201-0505 produs de “RANDOX LABORATORIES LTD.” și “FURUNO ELECTRIC CO. LTD.”

- Analizor
- sistem de purificare apă AQALINE
- sistem cu solutii de spălare 1, 2,
- PC
- Printer

4.3.1.2. Accesorii

- pipete 100 – 1000 μl
- conuri pentru pipete
- tuburi 12x70mm, 12x100mm
- centrifuga Multifuge 3s Heraeus
- frigider, congelator(-20grade)

4.3.2 Reactivi și alte substanțe

- Apă distilată
- RX WASH CONCENTRATE NR.1 – cod.RX3963
- RX WASH CONCENTRATE NR.2 – cod.RX3962

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 28 din 41

- C1 WASH Solution – cod. RX3973
- ACID WASH SOLUTION – cod.WS3853
- SALINE – cod. SA3854
- SAMPLE PRECISION TEST SOLUTION – cod. SP3856
- REAGENT PRECISION TEST SOLUTION – cod. RP3857
- Creatinină – cod. CR3814,
- Calciu – cod. CA3808,
- Bilirubină totală – cod. BR3859,
- Bilirubina directă – cod. BR3807,
- Fier – cod. SI3821,
- Glucoză (GODPAP) – cod. GL3815,
- Magneziu – cod. MG3819 , MG3880,
- Uree – cod. UR3825,
- Fosfatază alcalină – cod. AP3803,
- Amilază – cod. AY3805,
- Trigliceride – cod. TR3823,
- HDL – cod. CH3811,
- LDL – cod. CH3841,
- GGT – cod. GT3817,
- Colesterol – cod. CH3810,
- Acid uric – cod. UA3824,
- AST – cod. AS3804,
- ALT – cod. AL3801,
- Proteine totale – cod. TP4001,
- HbA1c – cod. HA3830.

4.3.3 Calibratori și controale

Ca materiale de control și calibratori se utilizează seruri de origine umană certificate, cu nivel normal și patologic.

Calibratorii și controalele se prezintă sub formă de pulbere liofilizată sau lichid gata de lucru. Reconstituirea se face conform instrucțiunilor din kitul fiecăruia.

Stabilitatea calibratorilor și controalelor reconstituite este precizată în prospectele acestora.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE	Ediția 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale	COD: PSL – B5-01	
		pag. 29 din 41

Materialele care se prezintă sub formă de pulbere liofilizată, după reconstituire se păstrează la congelator. Termenul de valabilitate pentru materialele care nu au fost deschise este cel înscris pe eticheta fiecărui kit sau flacon.

Conform cu instrucțiunile producătorului și procedurile specifice de lucru pentru fiecare analiză, la începutul lucrului se efectuează controalele interne pentru toate analizele precum și calibrările necesare.

Calibrările se fac conform frecvenței recomandate de producător, ori de câte ori există suspiciuni cu privire la exactitatea unor rezultate și la schimbarea lotului de reactiv.

Materialele de calibrare și control utilizate sunt incluse în Lista materialelor de referință – Biochimie.

LISTA MATERIALELOR DE REFERINȚĂ - BIOCHIMIE

Nume, cod material	Domeniu de utilizare	Producător	Forma de prezentare	Stabilitate după reconstituire
Direct HDL/LDL colesterol Calibrator, cod.CH2673	Calibrare HDL/LDL colesterol calibrator	Randox	Liofilizat	-5zile la 2-8° -1 lună la -20°
Multicalibrator cod.CAL2351	Multicalibrator biochimie	Randox	Liofilizat	-5zile la 2-8° -1 lună la -20°
Calibrator HB+HbA1c, cod.HA3444	Calibrare hemoglobina glicozilata	Randox	Gata de folosire	-
Lipid control Level2, cod.LE2669	Control lipide-nivel normal	Randox	Liofilizat	-5zile la 2-8° -1 lună la -20°
Human Assayed Multisera-Level2, cod. HN1530	Control multiparametri biochimie-nivel normal	Randox	Liofilizat	-5zile la 2-8° -1 lună la -20°
Human Assayed Multisera-	Control multiparametri	Randox	Liofilizat	-5zile la 2-8° -1 lună la -20°

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 30 din 41

Nume, cod material	Domeniu de utilizare	Producător	Forma de prezentare	Stabilitate după reconstituire
Level3, cod. HE1532	biochimie-nivel patologic			
Control hemoglobina glicozilata, cod. HA3445	Control hemoglobina glicozilata	Randox	Liofilizat	-5zile la 2-8° -1 lună la -20°

4.4 PRODUS BIOLOGIC DE ANALIZAT

4.4.1. PRODUSE BIOLOGICE DE ANALIZAT

Probele biologice sunt înregistrate la punctul de primire al probelor în sistemul informatic, cînd se generează un cod unic de identificare, ID, cu care se identifică probele.

Produsele biologice de analizat sunt reprezentate de ser obținut din eprubeta de biochimie, după centrifugare timp de 5min la 3500 rpm, plasmă și sânge integral obținute din eprubeta de hematologie, urina din urorecoltor și lichid de puncție, corespunzătoare din punct de vedere calitativ și cantitativ.

4.4.2. Verificarea și procesarea probelor

Modul de recoltare, identificare, procesare, transport, păstrare și eliminare a probelor în laborator este descris în Manualul de recoltare al probelor biologice, cod MRP 01, procedurile generale PG 5.4 - Proceduri preanalitice, PG 5.7 – Proceduri postanalitice.

Asistentul de laborator recepționează proba biologică primară, verifică ID-urile de pe eprubetă și din Cererea de analiza.

După centrifugare, probele sunt verificate pentru a determina dacă sunt corespunzătoare pentru testare. Probele necorespunzătoare sau cele ale căror caracteristici

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 31 din 41

pot influența calitatea rezultatelor (ex. ser lipemic, hemolizat, icteric, cantitate insuficientă) sunt identificate și înregistrate în Registrul de probe respinse, cod RGL -4.4-02.

Calitatea rezultatelor poate fi afectată în cazul în care proba este lipemică, hemolizată, icterică sau prezintă precipitate. De asemenea pot apărea interferențe datorate tratamentelor administrate anterior recoltării și din acest motiv se consemnează acest lucru pe Cererea de analize de către medicul curant.

Criteriile pentru respingerea probei biologice, sunt :

- identificarea necorespunzătoare a probei
- volum de sânge necorespunzător
- folosirea unui tub de recoltare greșit
- transport și stocare necorespunzătoare a probei
- hemoliza probei care se poate datora unei puncții venoase dificile sau manevrării necorespunzătoare a probei
- probele hiperlipemice recoltate posprandial sau la mai puțin de 4 ore de la ultima ingestie de alimente.

Dacă proba nu corespunde cantitativ sau calitativ se informează telefonic clinica de proveniență.

Responsabilul de analiză recepționează proba biologică secundară.

4.4.3. Pregătirea și conservarea probelor

După 30 min, timp în care are loc coagularea completă și separarea serului de cheag, probele biologice se centrifughează la 3500 rotații pe minut, timp de 5 minute.

Analiza se face din serul obținut prin centrifugarea probei primare.

Probele etichetate ca „urgente” se introduc în lucru în maxim o ora de la primire.

Dacă testele nu sunt efectuate în 24 ore, serul se păstrează în criotub etichetat corect, la 2-8°C, timp de 7 zile sau la -20°C pentru mai mult de 7 zile. După dezghețare proba din criotub este omogenizată cu grijă prin răsturnarea de câteva ori și nu prin agitare, fără a forma spumă, verificând dacă nu rămâne material nedizolvat.

După analizare se păstrează eșantioane de ser încă 24 de ore, în condiții care să asigure stabilitatea analiților astfel încât să se poată confirma rezultatele, să se poată

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 32 din 41

verifica identitatea probelor, să se poată efectua investigații suplimentare justificate medical, științific sau medico-legal.

Sângele total pentru HbA1c din vacutainerul de hematologie nu necesită o pregătire prealabilă.

Testarea probelor trebuie efectuată în intervalul de timp și în condițiile specificate în prospectul fiecărei metode.

4.5 MOD DE LUCRU (Procedură de lucru)

4.5.1 Operații pregătitoare

Pregătirea analizorului

Se pornește analizorul de la butonul ON / OFF de pe laterala stângă a aparatului, apoi se pornește PC – ul (mai întâi monitorul și apoi unitatea centrală). Dacă analizorul a fost lăsat în modul SLEEP pornirea este automată la ora prestabilită. După încălzirea lămpii de halogen (20 min.) analizorul este gata pentru lucru. Se verifică volumul soluțiilor de spălare în rezervoare și volumul apei distilate (umplerea acestora dacă este necesară). Verificăm inventarul de reactivi disponibili la bordul analizorului, necesitățile de recalibrare a testelor, preparăm, decongelăm, eșantionăm după caz materialele de control intern.

Modul de operare este descris detaliat în manualele de operare și schematic în instrucțiunile de lucru aferente, Instrucțiuni de operare – RxImola – cod IL-PS-B05-01-01

4.5.2 Întreținerea echipamentelor

Operațiunile de întreținere ale analizoarelor Rx Imola sunt de două tipuri, cele care pot fi făcute de utilizator și cele care necesită intervenția unui inginer de service. Meniul aparatului ghidează utilizatorul în efectuarea operațiunii de întreținere respective și monitorizează timpul scurs între 2 operațiuni, atenționând utilizatorul cu privire la data viitoare a intervenției. Mai multe detalii privind întreținerea echipamentelor de testare (analizoare) precum și pentru echipamentele auxiliare (centrifugi, distilator) sunt prezentate în dosarele fiecărui aparat în fișele și anexele corespunzătoare. Modul de completare a acestor înregistrări este descris în procedura generală PG-5.3– Echipament de laborator.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 33 din 41

4.5.3 Atenționări

Măsuri de protecție a personalului

Toate produsele biologice și kit-urile de reactivi din laborator sunt tratate ca și cum ar fi potențial infectate.

Toate eșantioanele de sânge sau de produse biologice sunt puse în containere sigure care previn scurgerea și contaminarea feței exterioare a containerelor.

Toate persoanele care manipulează probe de sânge sau produse biologice (chiar și scoaterea dopului de la o eprubetă) poartă mănuși pentru a evita posibilitatea contactului cu lichidul biologic. Mănușile și mâinile se spală după terminarea lucrării respective.

Suprafețele de lucru din laborator sunt dezinfectate cu substanțe chimice adecvate după terminarea lucrului.

Materialele contaminate folosite în laborator sunt decontaminate înainte de a fi puse în saci sau containere în conformitate cu politica laboratorului referitoare la inactivarea materialului folosit.

Toate persoanele își spală mâinile după terminarea activității în laborator și își scot echipamentul de protecție (halat, papuci) înainte de părăsirea laboratorului.

Toate produsele biologice și kit-urile de reactivi din laborator sunt tratate ca și cum ar fi potențial infectate și personalul respectă următoarelor reguli de bioprotecție:

- 1. Suntem întotdeauna atenți la** intrare controlată, atenționarea riscului, majoritatea bacteriilor manipulate în acest laborator sunt patogene pentru om
- 2. Purtăm echipamentul de protecție în spațiile de lucru :** halat, mănuși, pe toată durata lucrului; la ieșire se schimbă echipamentul de protecție.
- 3. Nu punem nimic în gură :** - nu mâncăm, nu bem, nu fumăm, nu ne machiem în laborator
- 4. Nu punem obiecte personale pe masa de lucru :** ochelari, mănuși, poșete, batiste; nu utilizăm lentile de contact în spațiile considerate de risc.
- 5. Decontaminăm suprafețele de lucru :** cu soluții dezinfectante avizate și detergenți, obligatoriu la încheierea lucrului
- 6. Evităm producerea de aerosoli**
- 7. Ne spălăm pe mâini :** cu apă și săpun ori de câte ori este nevoie și la sfârșitul programului de lucru

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 34 din 41

8. În caz de rănire accidentală: anuțăm imediat șeful direct pentru acordarea de îngrijiri calificate și măsuri de urgență

9. Nu lucrăm cu leziuni cutanate neprotejate: folosim comprese și bandaje sterile impermeabile

4.5.4 Pregătirea reactivilor

Pregătirea reactivilor

Majoritatea reactivilor pentru determinările de biochimie sunt gata de utilizare. În cazul celor care necesită preparare această operațiune o executăm conform prospectelor de lucru furnizate de producător. Utilizăm reactivi dedicați pentru analizoarele din dotare. Înainte de începerea lucrului verificăm numărul de teste rămase disponibile în fiecare flacon din caruselul de reactivi prin vizualizarea inventarului de reactivi din softul analizoarelor.

Reactivii utilizați sunt înregistrați în Registrul consum reactivi.

4.5.5 CONTROLUL DE CALITATE

Pentru determinările parametrilor de biochimie prin metode fotocolorimetrice, imunoturbidimetrice efectuăm controlul intern și extern de calitate conform PG 5.6. Asigurarea calitatii rezultatelor.

4.5.5.1 Controlul intern de calitate

Controlul intern se face la începutul lucrului pentru toate analizele. Aceste seruri de control au fost enunțate la capitolul 4.3.3 în Lista materialelor de referință.

După efectuarea controlului (cu frecvență o dată la 8 ore), în fereastra QC din meniul analizorului sunt vizualizate rezultatele efectuării analizelor de analiti asupra serurilor de control în raport cu valorile țintă și intervalul de valori permise ($\pm 2SD$). Toate aceste date sunt prezentate în format numeric precum și pe o diagramă Levey-Jennings.

Astfel valorile serurilor de control pot fi interpretate și pot fi întreprinse acțiunile corective ce rezultă din aceste valori. Rezultatele serurilor de control se arhivează în memoria aparatului și se tipăresc periodic apoi se indosariază.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 35 din 41

4.5.5.2 Controlul extern de calitate

Laboratorul participă la comparări interlaboratoare, în principal la programe de evaluare externă a calității internaționale. Rezultatele testării unor probe oarbe sunt trimise organizatorilor acestor programe care le interpretează statistic și le prezintă atât sub formă numerică, cât și sub formă grafică.

Sunt prezentate valorile următoarelor mărimilor statistice: media rezultatelor măsurărilor efectuate pe aceeași probă, deviația standard a acestor rezultate și coeficientul lor de variație.

Rezultatele laboratorului sunt comparate cu cele ale unor grupuri de comparație (grupul laboratoarelor cu aceeași metodă de determinare, grupul tuturor laboratoarelor participante etc.)

Rezultatele comparărilor interlaboratoare sunt analizate de către seful de compartiment împreună cu RA și în cazul identificării unor neconformități, se inițiază PG 4.9 – Identificarea și controlul neconformităților.

4.5.6 PROCESAREA REZULTATELOR

Calculul rezultatelor se face automat de către analizor utilizând formule matematice complexe de interpolare a curbelor de calibrare. Aceste proceduri sunt descrise pe larg în manualul aparatului.

4.5.7 RAPORTARE

Executăm raportarea rezultatelor conform PG 5.8. Raportarea rezultatelor analizelor, pe Buletine de analiza medicală generate automat din sistemul informatic cod FGL-5.8-01. Rezultatele critice sunt înregistrate în registrul valorilor de alertă cod. RGL-5.8-01. Valorile considerate critice se regăsesc în anexa 2 la procedura.

5. RESPONSABILITĂȚI

5.1 MANAGERUL TEHNIC

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 36 din 41

- Stabilește împreună cu șeful de compartiment programul de control extern interlaboratoare.
- Verifică Buletinul de analiză.
- Asigură consultanță privind rezultatele analizelor atunci când solicitantul o cere.

Notă : Pentru cazul în care este absent, este substituit de locțiitorul său.

5.2 SEFUL DE COMPARTIMENT

- Stabilește programul de control intern și extern.
- Verifică și validează rezultatele controlului intern de calitate.
- Execută analizele pentru care este responsabil și validează prin semnătură rezultatele.
- Verifică și validează rezultatele obținute de către personalul din subordine.
- Validează prin semnătură buletinul de analiză.
- Completează Fișa de capabilitate cod. **F-PG02-05**.

5.3 RESPONSABILUL DE ANALIZĂ

- Execută analizele pentru care este responsabil și validează prin semnătură rezultatele acestora
- Verifică și validează rezultatele controlului intern de calitate.
- Validează și introduce în softul de management pacienți rezultatele analizelor.
- Întocmește Buletinul de analiză și confirmă autenticitatea rezultatelor, prin semnătură.

5.4 ASISTENTA DE LABORATOR

- Recepționează produsele biologice de analizat
- verifica probele primare
- pregateste probele pentru analiza si pentru conservarea acestora
- Eliberează Buletinul de analiză
- Elimina deseurile medicale

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 37 din 41

5.5 INFIRMIERA

- Execută și întreține curățenia în laborator.
- Colectează și depozitează reziduurile de probe și deșeurile auxiliare, conform instrucțiunilor de lucru.

6. ÎNREGISTRĂRI

Work list

Buletin de analiză, cod FGL-5.8-01

Registru valori de alertă, cod RGL-5.8-01

Grafice de control

Rezultatele controlului intern si extern de calitate

7. ANEXE

Anexa 1 - Tabel cu valori de referință

Anexa 2 - Tabel cu valori de alertă (critice)

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 38 din 41

Anexa 1 –PS-B5-01 - TABEL CU VALORI DE REFERINȚĂ

NR CRT	DENUMIRE ANALIZĂ	CATEGORIE POPULAȚIE	INTERVAL DE REFERINȚA	UNITATE DE MĂSURĂ
1	GLUCOZA (sange venos)		70 - 115	mg/dl
3	GLUCOZA (urina 24h)		ABSENT	g/24 h
4	UREE (ser, plasma)		10 - 50	mg/dl
5	UREE (urina 24h)		20 - 35	g/24h
6	CREATININA (ser, plasma)	barbati	0.6-1.1	mg/dl
		femei	0.5-0.9	mg/dl
7	ACID URIC	barbati	3.4 - 7.0	mg/dl
		femei	2.4 - 5.7	mg/dl
8	PROTEINE TOTALE	copii< 3 ani	54 - 87	g/l
		adulti	67 - 87	g/l
9	BILIRUBINA TOTALA		0.2 - 1.0	mg/dl
10	BILIRUBINA DIRECTA		0.0 - 0.25	mg/dl
11	COLESTEROL TOTAL	adulti	< 200	mg/dl
12	HDL - COLESTEROL DIRECT		40 - 66	mg/dl
13	LDL - COLESTEROL DIRECT		< 159	mg/dl
14	TRIGLICERIDE		< 150	mg/dl
15	CALCIU TOTAL		8.1 - 10.4	mg/dl
16	CALCIU IONIC		4 - 5.6	mg/dl
17	MAGNEZIU		1.7 - 2.7	mg/dl
18	FIER	femei	37 - 148	μg/dl
		barbati	59 - 158	μg/dl
19	TGO/AST (aspartataminotransferaza)	barbati	< 37	u/l
		femei	< 31	u/l

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 39 din 41

NR CRT	DENUMIRE ANALIZĂ	CATEGORIE POPULAȚIE	INTERVAL DE REFERINȚA	UNITATE DE MĂSURĂ
20	AMILAZA (ser)		28 - 100	u/l
21	AMILAZA(urina)		< 460	u/l
23	TGP/ALT	femei	< 31	u/l
		barbati	< 40	u/l
24	GGT (gama glutamil transpeptidaza)	barbati	11 - 50	u/l
		femei	7 - 32	u/l
25	FOSFATAZA ALCALINA	copii	< 650	u/l
		adulti	98 -279	u/l

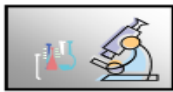
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 40 din 41

Anexa 2 – PS-B5-01 - Tabel cu valori de alertă (critice)

NR CRT	DENUMIRE ANALIZĂ	CATEGORIE POPULAȚIE	INTERVAL DE REFERINȚA	VALORI DE ALERTA(CRITICE)	U.M.
1	GLUCOZA (sange venos)		75 - 115	<40 >300	mg/dl
2	HEMOGLOBINA GLICOZILATA		nediabetici: 4 - 6 diabet controlat: 6 - 8 diabet necontrolat: >8	>12	%
3	GLUCOZA (urina 24h)		ABSENT	-	g/24 h
4	UREE (ser, plasma)		15 - 50	150	mg/dl
5	UREE (urina 24h)		20 - 35	-	g/24h
6	CREATININA (ser, plasma)	barbati	0.6 - 1.1	2	mg/dl
		femei	0.5 – 0.9	2	mg/dl
7	ACID URIC	barbati	3.4 - 7.0	10	mg/dl
		femei	2.4 - 5.7	10	mg/dl
8	PROTEINE TOTALE (ser)	copii<3 ani	54 - 87	48-90	g/l
		adulti	67 - 87	50-90	g/l
9	BILIRUBINA TOTALA		0.2 - 1.0	3	mg/dl
10	BILIRUBINA DIRECTA		0.0 - 0.25	-	mg/dl
17	COLESTEROL TOTAL		< 200	300	mg/dl
18	HDL - COLESTEROL DIRECT		40 - 66	< 25	mg/dl
19	LDL - COLESTEROL DIRECT		< 159	>200	mg/dl
20	TRIGLICERIDE		< 150	200	mg/dl
21	CALCIU TOTAL		8.1 - 10.4	< 7 >11.5	mg/dl
22	MAGNEZIU		1.7 - 2.7	< 1.3	mg/dl
23	FIER	barbati	59 - 158	<10 >300	μg/dl
		femei	37 - 145	<10 >300	μg/dl
24	TGP/ALT (alaninaminotransferaza)	barbati	< 40	150	u/l

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA PARAMETRILOR DE BIOCHIMIE PRIN METODE FOTOCOLORIMETRICE, IMUNOTURBIDIMETRICE COD: PSL – B5-01	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 41 din 41

NR CRT	DENUMIRE ANALIZĂ	CATEGORIE POPULAȚIE	INTERVAL DE REFERINȚA	VALORI DE ALERTA(CRITICE)	U.M.
		femei	< 31	150	u/l
25	TGO/AST (aspartataminotransferaza)	barbati	< 37	150	u/l
		femei	< 31	150	u/l
26	AMILAZA (ser)		28 - 100	200	u/l
27	GGT (gama glutamil transpeptidaza)	barbati	11 – 50	180	u/l
		femei	7 – 32	150	u/l
28	FOSFATAZA ALCALINA	adulti	98 – 279	400	u/l
		copii	< 650	1500	u/l



**Spitalul Clinic de Boli Infecțioase
"Sf.Parascheva,, Iași
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2**

PROCEDURA SPECIFICĂ EXAMENUL COMPLET DE URINĂ

**Cod PSL-B5-02
Editia 1, Revizia 0
Din data de
01.05.2013**

APROBAT
Manager Tehnic
Dr Rodica Fantanaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
As.Lorena Zaborila

Elaborat:
Sef compartiment biochimie
Chim princ. Valentina Holban

**DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.**

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecțioase "Sf.Parascheva,, Iași - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA	Editia 1
Laboratorul de analize medicale	EXAMENUL COMPLET DE URINA	Revizia 0
	COD: PSL – B5-02	Exemplar nr.
		pag. 2 din 13

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânu					
Sef compartiment Biochimie	2.		Chim prin. Valentina Holban					

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 3 din 13

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale		pag. 4 din 13

CUPRINS

1. SCOP SI DOMENIU DE APLICARE	<u>5</u>
2. DOCUMENTE DE REFERINTA	<u>5</u>
3.DEFINITII SI ABREVIERI	<u>5</u>
3.1.Definitii.....	<u>5</u>
3.2. Prescurtari	<u>5</u>
4.DESCRIEREA PROCEDURII	<u>6</u>
5.RESPONSABILITATI.....	8
6.INREGISTRARI SI ANEXE.....	9

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA	Editia 1
Laboratorul de analize medicale	EXAMENUL COMPLET DE URINA	Revizia 0
	COD: PSL – B5-02	Exemplar nr.
		pag. 5 din 13

1.SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Procedura descrie următoarele modalități de investigare a funcției excretorii renale: examenul sumar de urină, analiza microscopică a sedimentului urinar. Procedura se aplică în cadrul departamentului de biochimie.

Semnificație clinică:

Sedimentul urinar poate fi:

- organizat: celule epiteliale, hematii, leucocite, cilindrii, cilindroizi, pseudocilindrii, floră microbiană, paraziți, mucus, levuri
- neorganizat: substanțe de natură organică (acid uric, cistină, leucină, tirozină) sau de natură minerală (fosfați, carbonați, oxalați) care în funcție de modificările de diureză, pH sau regim alimentar precipită sub formă cristalină sau amorfă.

Valori de referință pentru sedimentul urinar:

Nr crt	Elemente din sedimentul urinar	Valori de referință
1	Nr cilindrii/câmp (40x)	Absenți (nu se specifică pe buletin când sunt absenți)
2	Nr cristale și originea/câmp (40x)	Absente (nu se specifică pe buletin când sunt absente)
3	Bacterii/câmp (40x)	Absente (nu se specifică pe buletin când sunt absente)
4	Leucocite/câmp (40x)	<8/câmp
5	Hematii/câmp (40x)	<3/câmp
6	Celule epiteliale plate (40x)*	<3/câmp

Valoarea diagnostică a celulelor epiteliale este limitată. Aspectul celulelor variază în raport cu regiunea din care provin: celulele epiteliale plate – vezica urinară; celulele cilindrice, alungite – uretră; celule mici, rotunde, ovale sau poligonale – căile urinare superioare sau tubii renali.

2.DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 6 din 13

2.1. EN ISO/CEI: 15189/2007 - Laboratoare medicale. Cerințe particulare pentru calitate și competență

2.2. SR EN ISO/TR 22869 - Laboratoare medicale. Ghid pentru implementarea în laboratoare a ISO 15189: 2003

2.3.Dumitrașcu, V., Gîju, S. și colaboratorii, *Sedimentul urinar*, Ed. de Vest, Timișoara, 2007

2.4. RoEQALM - Recomdări pentru standardizarea analizei sumarului de urina si sedimentului urinar 2008

2.5. Comoroșanu, S., Mitrică-Kondi, N., *Laborator clinic. Biochimie*, Ed. Medicală, București, 1981

2.6. Manualul Calității laboratorului, cod MC-01

2.7. Manualul de recoltare a probelor biologice, cod MRP

2.8. Manual de utilizare a analizorului de urini Dirui – H100

3.DEFINIȚII ȘI ABREVIERI

3.1. DEFINIȚII

3.1.1. Examen sumar de urină - analiza fizico-chimică a urinii

3.1.2. Sediment urinar - depozitul format pe fundul eprubetei cu urină, după 2 ore de menținere a probei în repaus, pe masă, sau după centrifugarea probei timp de 5 minute

3.1.3. Proteinurie - eliminarea urinară de proteine, inclusiv albumină (absentă la subiecții sănătoși, < 124mg/24ore).

3.1.4. Hematurie - eliminarea sîngelui în urină, sub formă de hematii; dacă acestea au fost lizate, se folosește termenul de hemoglobinurie.

3.1.5. Leucociturie - eliminarea urinară de leucocite peste pragul normal de 12/μL.

3.2. ABREVIERI

LPF - Low Power Field (cîmpul microscopic dat de obiectivul x20)

HPF - High Power Field (cîmpul microscopic dat de obiectivul x40)

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 7 din 13

FCR - forta centrifuga relativa

ID - număr de înregistrare atribuit unui singur pacient odată cu recepționarea și recoltarea probelor biologice. Acest număr se regăsește pe fiecare eșantion provenit de la un pacient.

GLU - glucoză

PRO - proteine

BIL - bilirubină

URO - urobilinogen

SG - (standard gravity) densitatea urinii

BLD - (blood) hematii sau hemoglobină

KET - corpi cetonici

NIT - nitriți

LEU - leucocite

4.DESCRIEREA PROCEDURII

4.1. RESURSE

4.1.1. Resurse umane

- biolog principal;
- chimist;
- biochimist;

4.1.2. Materiale necesare

- **analizor semiautomat pentru urina *Dirui H-100***
- strip-uri pentru analiza fizico-chimică a urinii H10 de la firma DIRUI Industrial Co., Ltd. (China), care analizează simultan 10 parametri: glucoză, proteine, bilirubină, urobilinogen, densitate, pH, hematii, corpi cetonici, nitriți și leucocite
- strip-uri de calibrare CheckSample H100
- urini de control: Urinalysis control Negative (flacon 8 ml, recondiționat), Urinalysis control Pozitive (flacon 8 ml, recondiționat), DIRUI Industrial Co., Ltd. (China)

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale		pag. 8 din 13

- eprubete curate, din sticlă, cu dimensiuni de 10x12mm
- stativ pentru eprubete
- lame și lamele (22x22mm) pentru microscop
- centrifugă
- microscop
- pipete semiautomate de 20-100μL
- vîrfuri pentru pipete
- hîrtie de filtru
- marker
- vas cu soluție dezinfectantă

4.2.EXAMENUL SUMAR DE URINĂ

Recipientele cu urină (recoltate dimineața, la prima emisie, după o toaletă genitală prealabilă, așa cum se precizează în procedura Manualul de recoltare a probelor biologice), se așează pe masa de lucru în ordinea crescătoare a numerelor de înregistrare. Pe eprubete curate și uscate, din sticlă, se notează numerele eșantioanelor de analizat (numere de identificare ale pacienților), iar eprubetele se așează în stativ, în ordinea crescătoare a numerelor de înregistrare.

4.2.1. Control de calitate

La începutul zilei de lucru, se verifica cititorul cu urina de control cu valori negative și pozitive. Se verifica dacă rezultatele se încadrează în specificația producătorului.

4.2.2. Citirea probelor

Probele se citesc urmând pașii stabiliți în manualul de operare și în IL-PS-B-02-01.

Rezultatul afișat și imprimat de analizor precizează, pentru fiecare parametru analizat, atât valoarea obținută pentru eșantionul respectiv, cât și intervalul de normalitate, astfel:

Parametru	Scor și/sau valoare obținută	Interval de normalitate
------------------	-------------------------------------	--------------------------------

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale		pag. 9 din 13

Glucoză	Negativ, +/- (50mg/dL), + (100mg/dL), ++ (250mg/dL), +++ (500mg/dL), ++++ (1000mg/dL)	Negativ (urme fine, nedetectabile)
Proteine	Negativ, +/- (15mg/dL), + (30mg/dL), ++ (100mg/dL), +++ (300mg/dL), ++++ (1000mg/dL)	Negativ
Bilirubină	Negativ, + (0,5mg/dL), ++ (2mg/dL), +++ (6mg/dL), ++++ (>6mg/dL)	Negativ
Urobilinogen	Normal, + (2mg/dL), ++ (4mg/dL), +++ (8mg/dL), ++++ (>8mg/dL)	Negativ (cantități mici, < 17μmol/L)
pH	5,6,7,8 sau 9	5-6
Densitate	1,000; 1,005; 1,010; 1,015; 1,020; 1,025; 1,030; >1,030.	1,015- 1,030
Hematii/Hemoglobină	Negativ, +, ++, +++	Negativ
Corpi cetonici	Negativ, +/- (5mg/dL), + (15mg/dL), ++ (40mg/dL), +++ (80mg/dL), ++++ (150mg/dL)	Negativ
Nitriți	Negativ, +, ++	Negativ
Leucocite	Negativ, 25/μL, 75/μL, 250/μL, 500/μL	Negativ

Rezultatele printate se pastreaza in laborator. Rezultatele sunt transferate in softul medical, automat sau manual.

4.3. SEDIMENTUL URINAR CALITATIV

Eprubetele cu probe de urină folosite la efectuarea examenului sumar se centrifughează 5 minute la 1500 rotații/minut, se aruncă supernatantul (aproximativ 9 mL din cei 10 existenți), iar depozitul obținut se omogenizează prin agitare. Se

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iasi	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale		pag. 10 din 13

numeratează lame de microscop cu ID-urile corespunzătoare și se pipetează câte 50μL de sediment urinar din fiecare eprubetă pe lama cu același număr. După fiecare pipetare, se aruncă vârful de pipetă folosit în containerul pentru deșeuri. Se acoperă picătura cu o lamelă și se citește rezultatul la microscop, cu obiectivul x20, apoi cu obiectivul x40.

Cu obiectivul mic se caută elemente de dimensiuni mari: celule epiteliale plate, rotunde sau în rachetă, săruri, cristale (fosfați, oxalați, urați), floră microbiană, levuri, *Trichomonas vaginalis*, mucus, cilindri hialini.

Cu obiectivul x40 se verifică prezența leucocitelor și a hematiilor.

În mod normal, sedimentul urinar poate conține:

- celule epiteliale plate <20/LPF
- cilindri hialini<2/LPF
- leucocite<2/HPF
- hematii<1/HPF
- celule epiteliale renale și tubulare<5/HPF
- prezența spermatozoizilor în urină poate fi cauză de falsă proteinurie.

Prezența acestor elemente în număr mai mare sau a celorlalte elemente (indiferent de număr) este semn patologic și se exprimă prin termeni ca "rare", "relativ frecvente", "frecvente", "depozit".

Proteinuriile de >50mg/dl se verifică prin metoda cu acid sulfosalicilic: într-o eprubetă se pipetează 4 ml urină peste care se adaugă 4-5 picături de acid sulfosalicilic 20%. Se agită ușor și se lasă 10 minute în repaus. În funcție de cantitatea de proteine conținute, urina devine opalescentă sau apare un precipitat, situație în care proteinele pot fi dozabile.

Modalitati de exprimare a sedimentului urinar organizat si neorganizat conform standardizarii ROEQALM (pag 19-20):

Elemente - sediment organizat	Modalitati de exprimare
Eritrocite	1-2 pe camp = FOARTE RARE 3-4 pe camp = RARE 5-10 pe camp = RELATIV FRECVENTE 11-25 pe camp = FRECVENTE

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale		pag. 11 din 13

	26-40 pe camp = NUMEROASE peste 40 pe camp = DEPOZIT
Leucocite	1-2 pe camp = FOARTE RARE 3-4 pe camp = RARE 5-10 pe camp = RELATIV FRECVENTE* 11-25 pe camp = FRECVENTE* 26-40 pe camp = NUMEROASE* peste 40 pe camp = DEPOZIT
Celule tubulare renale** si celule tranzitionale (uroteliale)	0-1 celule pe camp = FOARTE RARE 2-3 celule pe camp = RARE 4-6 celule pe camp = RELATIV FRECVENTE > 6 celule pe camp = FRECVENTE
Celule scuamoase (epiteliale plate)	Se apreciaza pe camp***: FOARTE RARE, RARE, RELATIV FRECVENTE, FRECVENTE, NUMEROASE
Celule epiteliale cu suspiciune de atipii	Prezente celule epiteliale cu suspiciune de atipii

* Se poate mentiona „izolate si grupate”

** Daca laboratorul are dificultati in diferentiere celulelor tranzitionale de celulele tubulare renale se poate folosi termenul de „celule rotunde mici”

*** Se poate mentiona „izolate si in placarde”

Elemente - sediment neorganizat	Modalitati de exprimare
Cilindri (hialini, celulari, granulosi, ciroși, grasos, cilindri cu depuneri de cristale)	0-2 pe camp = FOARTE RARI 3-4 pe camp = RARI 5-10 pe camp = RELATIV FRECVENTI 11-20 pe camp = FRECVENTI > 20 pe camp = NUMEROASI
Fragmente epiteliale (întotdeauna patologice)	PREZENTE
Flora microbiana	NEDECELABIALA*, RARA, FRECVENTA,

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale		pag. 12 din 13

Levuri Paraziti Filamente uretrale, Mucus Spermatozoizi	ABUNDENTA RARE, FRECVENTE, NUMEROASE PREZENTI RARE, FRECVENTE, ABUNDENTE RARE, FRECVENTI, NUMEROSI
Cristale	1-2 pe camp = FOARTE RARE 3-4 pe camp = RARE 5-10 pe camp = RELATIV FRECVENTE** 11-20 pe camp = FRECVENTE** 21-40 pe camp = NUMEROASE** peste 40 pe camp = DEPOZIT

* In cazul florei microbiene nu se utilizeaza termenul „ABSENTA”

** Se poate mentiona „izolate si agregate”

4.6 ACTIVITĂȚI FINALE

Se introduc materialele consumabile (lame, lamele, eprubete) în vasul de polietilenă cu soluție dezinfectantă, apoi se clătesc cu apa distilată și se șterg cu o cârpă moale, se aruncă urocultoarele, strip-urile folosite în containerul pentru deșeuri, se aruncă apoi și mănușile de latex ale tehnicianului în container, se deconectează de la sursa de curent microscopul, centrifuga și analizorul de urini.

Se verifica rezultatele si apoi se trec in buletinul de analiza si se valideaza de catre RA.

5.RESPONSABILITĂȚI

5.1. RESPONSABILUL DE ANALIZĂ

- execută examenul microscopic al sedimentului urinar
- numără și calculează elementele pentru sedimentul urinar cantitativ
- verifică rezultatele în caietul de lucru
- trece rezultatele în computer
- verifică, validează rezultatele

5.3. EXECUTANTUL:

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA EXAMENUL COMPLET DE URINA COD: PSL – B5-02	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 13 din 13

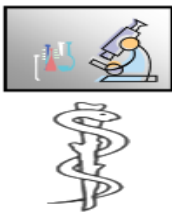
- execută examenul sumar de urină
- pregătește examenul microscopic pentru sedimentul urinar
- trece rezultatele în caietul de lucru
- arhiveaza rezultatele QC si ale probelor

6. ÎNREGISTRĂRI

Registrul de lucru sediment urinar, cod RSL-B5-02-01

7. ANEXE

-



**Spitalul Clinic de Boli Infecțioase
"Sf.Parascheva,, Iași
Laboratorul de analize medicale
IASI, Str.Octav Botez Nr 2**

PROCEDURA SPECIFICĂ

DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT

**Cod PS-B5-01
Editia 1, Revizia 0**

**Din data de
01.05.2013**

APROBAT
Manager Tehnic
Dr Rodica Fantanaru

VERIFICAT
Responsabil Calitate
As.Lorena Zaborila

Elaborat:
Sef compartiment biochimie
Chim princ. Valentina Holban

**DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT
EXEMPLAR Nr.**

Avertisment: Documentul de fata este proprietatea Spitalului Clinic de Boli Infecțioase "Sf.Parascheva,, Iași - Laboratorul de analize medicale. Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul laboratorului.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 2 din 26

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.		As. Lorena Zaborila					
Manager Tehnic	1		Dr. Rodica Fântânu					
Sef compartiment Biochimie	2.		Chim prin. Valentina Holban					

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 3 din 26

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 4 din 26

CUPRINS

1. SCOP SI DOMENIU DE APLICARE	5
2. DOCUMENTE DE REFERINTA	5
3.DEFINITII SI ABREVIERI	5
3.1.Definitii	5
3.2. Prescurtari	5
4.DESCRIEREA PROCEDURII	6
4.1. Semnificatie clinica	6
4.2. Principiul metodei.....	6
4.3. Resursele necesare.....	6
4.4. Produsul biologic de analizat.....	6
4.5.Descrierea activitatii.....	6
4.6.Activitati finale.....	7
4.7.Valori de referinta.....	7
5.RESPONSABILITATI.....	8
6.INREGISTRARI SI ANEXE.....	9

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 5 din 26

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Prezenta procedura specifică descrie metoda de determinare a concentrației ionilor de sodiu, potasiu, clor, calciu din lichide biologice din ser.

Această procedură este utilizată de către biolog, biochimist, chimist în Laboratorul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Sf. Parascheva” Iași

2. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

1. SR EN ISO/CEI: 15189:2007 - Laboratoare medicale. Cerințe particulare pentru calitate și competență
2. SR EN ISO/TR 22869 - Laboratoare medicale. Ghid pentru implementarea în laboratoare a ISO 15189 : 2003
3. SR EN ISO 15190 : 2005 - Laboratoare medicale. Cerințe pentru securitate
4. Manualul calității laboratorului, cod MC-01
5. Manualul de operare si de service al analizatorului Diestro 103AP
6. Marcela Zamfirescu-Gheorgiu, Aurora Popescu, Tratat de biochimie medicală, vol.I și II, Ed. Medicală, Buc. 1991
7. Iulian Mincu, Nicolae Hâncu, Bolile metabolice în practica medicală, Cluj- Napoca, Ed. Dacia, 1981
8. Jacques Wallach, “Interpretarea testelor de diagnostic”, editie internațională, Editura Științelor Medicale
9. Prospect control DIESTRO-TRILEVEL cod IN 0750
- 10.– Manualul de recoltare a probelor biologice

3. DEFINIȚII SI ABREVIERI.TERMINOLOGIE

3.1. DEFINIȚII

- *Specificitatea analitică*: termen care exprimă calitativ măsura în care alte substanțe interferează cu determinarea unei substanțe potrivit unei proceduri date. Substanțele interferente pot fi endogene sau exogene.
- *Specificitatea clinică* este definită ca probabilitatea ca prin testare să se obțină un rezultat negativ în absența analitului specific.
- *Senzitivitatea clinică* este definită ca probabilitatea ca prin testare să se obțină un rezultat pozitiv în prezența analitului respectiv.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 6 din 26

- *Acuratețea (exactitatea) măsurării:* apropierea (concordanța) dintre rezultatul unei măsurări și valoarea reală („true value”) a măsurandului.
- *Limita de detecție (sensibilitate) :* rezultat singular minim care, cu o anumită probabilitate, poate fi distins (diferențiat) de valoarea blankului. Limita definește punctul de la care analiza devine posibilă și aceasta poate fi diferită de limita inferioară a domeniului analitic determinabil.
- *Calibrare:* ansamblul de operații care stabilesc în condiții specificate relația dintre valorile unei mărimi indicate de un aparat de măsura sau un sistem de măsurare sau dintre valorile reprezentate de o măsură sau un material de referință și valorile corespunzătoare realizate cu etaloane.
- *Validare:* confirmarea, în baza unei examinări și pe baza punerii la dispoziție a unei dovezi că cerințele particulare pentru o utilizare specială sunt satisfăcute.
- *Trasabilitatea:* o proprietate atribuită unui rezultat test sau valoare măsurată care poate fi raportată la o referință fixată, de obicei standarde naționale sau internaționale, printr-o serie continuă de ecuații (determinări) ale căror incertitudini sunt cunoscute.
- *Incertitudinea de măsurare:*
 - estimatie, caracterizând intervalul de valori în interiorul căruia se găsește valoarea adevărată a măsurandului. (VIM, ediția I, 1984)
 - limitele intervalului de valori, care, cu o anumită probabilitate include valoarea adevărată a măsurandului.

3.2. ABREVIERI

- **Na** - sodiu
- **K** – potasiu
- **Cl** – clor
- **Ca** – calciu
- **QC** - control de calitate
- **cNa⁺** - concentratia sodiului
- **Cal.** – calibrare
- **Meas.** – masurare
- **Serv.** – service
- **Cap.** – capilar
- **Esc.** – tasta „escape” de iesire din meniu unde se afla utilizatorul sau de anulare a unei comenzi
- **cK⁺(P)** – concentratia potasiului in plasma

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 7 din 26

- **cK⁺(aP)** – concentratia potasiului in sange arterial
- **cNa⁺(P)** – concentratia sodiului in plasma
- **cNa⁺(aP)** - concentratia sodiului in sange arterial
- **cCl⁻(P)** – concentratia clorului in plasma
- **cCl⁻(aP)** – concentratia clorului in sangele arterial
- **cCa⁺⁺(P)** – concentratia calciului in plasma
- **cCa²⁺(aP)** - concentratia calciului in sange arterial
- **I.S.E.** – Ion Selective Electrode
- **IFCC** – International Federation of Clinical Chemistry
- **EDTA** – acid etilendiaminotetraacetic
- **ADC** – Analog to Digital Conversion signal

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 8 din 26

4. DESCRIEREA PROCEDURII

4.1. SEMNIFICAȚIA CLINICĂ

4.1.1 SODIUL

Organismul uman are un nivel total de sodiu de aproximativ 60 mmol/kg, din care majoritatea se găsește în oase și extracelular. Nivelul plasmatic (aproximativ 140 mmol/l) este reglat prin conținutul în sodiu al plasmei, apa și potasiul intracelular. Deci, concentrația mare a sodiului în plasmă se datorează deshidratării.

Sodiul reprezintă aproximativ 90% din cationii anorganici din plasma, fiind responsabil pentru aproape jumătate din osmolaritatea plasmei.

Valori de referință: Ser 135 – 148 mmol/l.

Valori scăzute ale sodiului în ser pot fi cauzate de:

- aport mai mare de apă decât de sodiu: insuficiența cardiacă, insuficiența renală, boli ale ficatului, sindrom nefrotic, creștere a secreției de ADH, consum excesiv de apă.
- deficit de sodiu mai mare decât de apă: vomă, diaree, obstrucție intestinală, tratament diuretic, arsuri, insuficiența suprarenală (hiperaldosteroism).
- circuitul sodiului din spațiul extracelular în cel intracelular: insuficiența suprarenală (hiperaldosteroism), sindrom anemic hemolitic.
- pseudo-hipernatremie: hiperglicemie, hiperlipemie, hiperglobulinemie.

Valori crescute ale sodiului în ser pot fi cauzate de:

- aport mai mare de sodiu decât de apă: aport excesiv de sodiu, administrare de clorură de sodiu sau bicarbonat de sodiu, hipertonice, hiperaldosteroism primar.
- deficit de apă mai mare decât de sodiu: transpirație excesivă (exerciții, febră, căldura ambientală), arsuri și anumite diaree și vomă prin care se pierde mai multă apă decât sodiu, ca și în diureza osmotică, hiperventilație, diabet insipid, scăderea aportului de apă.
- steroizi.

4.1.2 POTASIUL

Organismul uman are o cantitate totală de 3000 – 4000 mmoli de potasiu din care majoritatea se găsește intracelular. Plasma (și lichidul extracelular) conține numai 4.0 mmol/l, totalizând 50 mmoli (lichidul extracelular este aproximativ 12l). Cu toate acestea potasiul extracelular constituie numai 1-2% din potasiul total, este de o importanță capitală deoarece una din funcțiile principale este de a media reglarea întregului echilibru al potasiului din organism. Un nivel normal al potasiului este esențial pentru reglarea funcției cardiace. Valorile care nu se încadrează între 2.5 și 7.0 mmol/l sunt letale.

Valori de referință: Ser 3.7 – 5.3 mmol/l.

Valori scăzute ale potasiului în ser pot fi cauzate de:

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 9 din 26

- circuitul potasiului din spatiul extracelular in cel intracelular: alcaloza respiratorie sau metabolica, scaderea insulinei plasmatice, diureza fortata (tratament cu diuretice), hipercalcemie si diabetus mellitus.

- aport mai mic de potasiu: dieta saraca in potasiu, alcoolism, anorexie nervoasa.

- cresterea pierderii gastrointestinale: diaree, voma, drenaj gastrointestinal, malabsorbtie, abuz de laxative sau clisme.

- cresterea pierderii urinare: hiperaldosteronism primar si secundar, hiperplazie suprarenala, sindromul Bartter, anticonceptionale orale, sindrom adrenogenital, boli ale rinichilor.

- scaderea magneziului.

Valori crescute ale potasiului in ser pot fi cauzate de:

-pseudohipercalcemie, hemoliza, leucocitoza.

-miscari din spatiul intracelular in cel extracelular: acidoza, traumatisme severe, hipoxie celulara, deficienta de insulina.

-aport mare de potasiu: dieta bogata in potasiu, suplimente orale cu potasiu, administrare intravenoasa de potasiu, transfuzie cu sange invecitat.

-excretie diminuată de potasiu: insuficienta renala, hiperaldosteronism (insuficienta suprarenalelor), diuretice care blocheaza secretia potasiului, defecte primare ale tuburilor renale care afecteaza secretia potasiului.

-acidoza metabolica endogena.

1.1.3 CLORUL

Ionul de clor este anionul principal al corpului din lichidul extracelular. Nivelul plasmatic este de aproximativ 100 mmol/l, reprezentand cea mai mare parte din ionii anorganici. Concentratia de clor prezinta variatii datorate aportului de sare. Sodiul si clorul impreuna reprezinta majoritatea componentelor plasmatice osmotice active. Rinichiul joaca un rol important in reglarea clorului. Clorul acompaniaza o mare parte din sodiul filtrat de glomerul si este de asemeni activ in schimburile clor – bicarbonat.

Valori de referinta: Ser 98 – 109 mmol/l.

Clorul, ca parametru luat individual este de o importanta scazuta in majoritatea situatiilor. Totusi, valori scazute pot cauza spasme musculare, apatie sau anorexie. Valorile crescute pot determina acidoza metabolica hipercloremica.

Importanta majora a clorului este cea a descoperirii deficitului de anioni.

Modificarile electrolitilor în diferite stări fiziopatologice:

	SANGE		
	SODIU	POTASIU	CLOR
Emfizem pulmonar	N	N	S
Insuficienta cardiaca	N sau C	N	S

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 10 din 26

congestiva			
Transpiratie excesiva	S	N	S
Diaree	S	S	S
Stenoza pilorica	S	S	S
Deshidratare	S	N	C
Inanitie	C	S	N
Malabsorbtie	N	S	N
Intoxicatie cu salicilati	S	N	C
Hiperaldosteronism primar	N	S	S
Insuficienta corticosuprarenaliana	S	C	S
Diabet insipid	N sau C	N	C
Acidoza diabetica	S	N sau C	S
Administrare de diuretice mercuriale	S	S	S
Administrare de diuretice tiazidice	S	S	S
Administrare de clorura de amoniu	S	S	C
Administrare de acetazolamida (Diamox)	S	S	C
Acidoza renala tubulara	S	S	C
Insuficienta renala cronica	S	N sau S	S sau N
Insuficienta renala acuta	S	C	C

*N = valori normale; C = valori crescute; S = valori scazute.

4.1.4 CALCIUL IONIC

Calciul ionic din plasma este partea metabolic activa a calciului total, constituind aproape 50% din calciul total. Calciul total din plasma este legat de proteine (in special albumina) 40% si restul de 10% de anioni de bicarbonat, citrat, fosfat si lactat. Legarea de proteine depinde de pH. Calciul ionizat este necesar pentru o serie de procese enzimatice si mecanisme de transport membranar. Joaca deci un rol cheie in coagularea sangelui, cresterea celulara, transmiterea neuro-musculara si o serie de alte functii esentiale vietii.

Valori de referinta: 4.0 – 5.6 mg/dl (1.00– 1.40 mmol/l).

Valori scazute ale calciului ionic pot fi determinate de:

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 11 din 26

-alcaloza.
-insuficienta renala.
-insuficienta circulatorie acuta.
-lipsa vitaminei D.
-hipoparatiroidism.
Valori crescute ale calciului ionic pot fi cauzate de:
-cancer.
-tireotxicoza.
-pancreatita.
-imobilizare.
-hiperparatiroidism.

4.2. DESCRIEREA METODELOR DE ANALIZĂ UTILIZATE (principiul metodei)

Metoda ISE (Ion Selective Electrode) masoara electrolitii prin doua tehnologii diferite, direct si indirect, cunoscute ca Direct ISE si Indirect ISE.

Metoda ISE directa

Masurarea este efectuata direct pe ser.

Metoda ISE directa masoara activitatea electrolitilor in plasma (mmol/kg H₂O) sau concentratia in plasma (mmol/l). Activitatea electrochimica a ionilor in apa se transforma in concentratia corespunzatoare cu ajutorul unui factor specific ionilor. Acest lucru este aplicabil doar la un nivel dat de concentratie. Folosirea acestui factor asigura faptul ca metoda ISE directa reflecta o situatie curenta, activitatea cu relevanta clinica, indiferent de valorile proteinelor sau/si a lipidelor. Cu toate acestea, rezultatul este in mod traditional numit „concentratie”. Aceasta conversie are la baza recomandarile expertilor IFCC privind pH-ul si gazele din sange pentru a preveni confuzia datorata existentei celor doua tipuri de rezultate ale ionilor.

Rezultatele obtinute prin sistemul ISE direct sunt bine corelate cand probele au un continut normal de proteine si lipide. Aceasta bineanteles necesita eliminarea erorilor preanalitice.

Analizorul automat determina electrolitii prin metoda ISE directa care se bazeaza pe proprietatile captatorilor sau senzorilor (electrozilor) de a fi selectivi pentru un ion specific din solutie.

Acest lucru este realizat deoarece membranele ISE dezvoltă un potential masurat in comparatie cu un electrod de referinta stabil, cu potential constant, aflat in legatura cu activitatea acestui ion particular pentru care este selectiv respectivul electrod.

Acest potential este dat de ecuatia lui Nernst:

$$E = E^0 \pm (RT/nF) \ln a_i \text{ (+ pentru cationi si – pentru anioni)}$$

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 12 din 26

Dar $a_i = f_i c_i$, atunci

$$E = E^0 \pm (RT/Nf) \ln (f_i c_i)$$

Unde:

E = potentialul electric masurat

E^0 = potentialul electric (constant) care depinde de sistemul de masurare

a_i = activitatea electrolitului

R = constanta generala a gazelor

T = temperatura

n = valenta electrolitului

F = constanta lui Faraday

c_i = concentratia electrolitului

f_i = coeficientul activitatii electrolitului.

Enuntand ecuatia in termenii functiilor analizorului:

$$E = E^0 \pm P \log (f_i c_i)$$

Unde:

P = panta ecuatiei electrodului pentru temperatura de lucru. Aceasta este calculata de analizor masurand calibratorii standard A si B si stiind concentratia fiecarui electrolit.

$$E (\text{proba}) = E^0 + P \log (f_i c_i \text{ proba})$$

$$E (\text{standard}) = E^0 + P \log (f_i c_i \text{ standard})$$

$$\Delta E = E_{\text{proba}} - E_{\text{standard}} = P \log (c_i \text{ proba} - c_i \text{ standard})$$

In final ecuatia care arata concentratia electrolitului este:

$$c_i \text{ proba} = c_i \text{ standard } 10^{(\Delta E/P)}.$$

Acesta este algoritmul pentru analizorul Diestro.

Limitele intre care trebuie sa se incadreze panta pentru masurarea electrolitilor sunt urmatoarele: pentru sodiu 25 - 90, pentru potasiu 30 – 80, pentru clor 20 – 80 si pentru calciu 10 – 40.

Intervale de detectie pentru ser:

-sodiu: 40 – 220 mmol/l;

-potasiu: 1 – 30 mmol/l;

-clor: 20 – 250 mmol/l;

-calciu: 0.2 – 5 mmol/l (1 mmol/l = 4 mg/dl);

-litu: 0.2 – 5 mmol/l.

4.3 RESURSE NECESARE

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 13 din 26

4.3.1 Echipamente și accesorii

4.3.1.1 Echipamente

Analizor de electroliti DIESTRO 103 AP

Analizor DIESTRO 103 AP seria 653 produs de “JS Medicina Electrónica SRL”.

- Analizor
- Imprimantă încorporată

4.3.1.2. Accesorii

- Manual de operare si de service - cod
- Tuburi de conectare – cod
- Tubulatura pompa peristaltica - cod
- Tub pentru absorbtia probei –cod
- Adaptoare pentru modul capilar de lucru – cod
- Centrifuga
- Microtuburi cu capac (1,5 ml)
- Hartie termosensibila pentru imprimanta incorporata
- Tifon steril

4.3.2 Reactivi și alte materiale necesare

- CALIBRATION SOLUTION PACK - cod IN 0101, contine 800 ml calibrator A, 100 ml calibrator B, un recipient pentru reziduri si un microcip cu valorile de concentratie atribuite calibratorilor.
- ISE CLEANING SOLUTION - cod IN 0400, contine 100 ml solutie de hipoclorit de sodiu 10% in apă distilată, pentru curatarea zilnică .
- SODIUM CONDITIONER –cod IN 0600, contine 20 ml de solutie de spalare pentru cazul in care valorile obtinute pentru sodiu nu sunt veridice.

4.3.3 Calibratori și materiale de control

Analizorul efectuează două tipuri de calibrare: într-un singur punct și în două puncte.

Calibrarea într-un singur punct este efectuată automat de către analizor în timpul măsurării probelor și nu este accesibilă utilizatorului. În acest tip de calibrare este utilizat doar calibratorul A.

Calibrarea în două puncte este executată în mod automat la deschiderea analizorului și în conformitate cu programul presetat de către operator în analizor (la un interval de timp stabilit) sau ori de câte ori este necesar. Acest tip de calibrare utilizează doi calibratori: A și B.

Controlul intern – se realizeaza cu ser de control N si P de la Randox (Hum Asy Control, 2, si 3.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 14 din 26

4.4 PRODUS BIOLOGIC DE ANALIZAT

Este reprezentat de ser obținut din eprubeta de biochimie (cu dop roșu), după centrifugare timp de 5min la 3500rpm.

4.4.1 Eșantionare și procesare

După 30 min, timp în care are loc coagularea completă și separarea serului de cheag, probele biologice se centrifughează la 3500 rotații pe minut, timp de 5 minute.

Analiza se face din serul obținut prin centrifugarea probei primare, în maxim 2 ore de la recoltare.

După centrifugare, probele sunt verificate pentru a determina dacă sunt corespunzătoare pentru testare. Probele necorespunzătoare sau cele ale căror caracteristici pot influența calitatea rezultatelor (ex. ser lipemic, hemolizat, icteric, cantitate insuficientă) sunt identificate și consemnate în Buletinul de analiza cod FGL-5.8-01, la rubrica „Comentarii”.

Calitatea rezultatelor poate fi afectată în cazul în care proba este lipemică, hemolizată, icterică sau prezintă precipitate. De asemenea pot apărea interferențe datorate tratamentelor administrate anterior recoltării și din acest motiv personalul care recepționează proba consemnează acest lucru în biletul de trimitere la rubrica aferentă.

Asistentul de laborator recepționează proba biologică primară, verifică ID-urile de pe eprubetă și din Formularul de solicitare analize FGL -5.4.1-N și dacă proba secundară (serul) obținută după centrifugarea probei primare corespunde cantitativ și calitativ.

Dacă proba nu corespunde cantitativ sau calitativ este informat departamentul de Recoltare, recepție și prelevare probe biologice care comunică telefonic beneficiarului necesitatea recoltării unei noi probe biologice.

Criteriile pentru respingerea probei biologice, sunt :

- identificarea necorespunzătoare a probei
- volum de sânge necorespunzător
- folosirea unui tub de recoltare greșit
- transport și stocare necorespunzătoare a probei
- hemoliza probei care se poate datora unei puncții venoase dificile sau manevrării necorespunzătoare a probei
- probele hiperlipemice recoltate posprandial sau la mai puțin de 4 ore de la ultima ingestie de alimente.

4.4.2 Eliminare

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale	COD: PSL – B5-03	
		pag. 15 din 26

Probele sunt eliminate conform procedurii – Colectarea, depozitarea și transportul produselor infectioase.

4.4.4 Informații reținute în computer

Rezultatele si datele despre pacienti sunt stocate in sistemul informatic al laboratorului .

4.5 MOD DE LUCRU (Procedură de lucru)

4.5.1 Activități pregătitoare

Pregătirea analizorului

La începutul lucrului efectuăm operațiunea „Rinse”. Această operațiune de spălare face parte din mentenanța zilnică și pregătește analizorul pentru măsurarea calibratorilor, controalelor și probelor. Operațiunea de Rinse aduce standardul A în electrozi, prevenind astfel amestecarea diferitelor substanțe în timpul diferitelor operațiuni. De asemenea curăță circuitul înlăturând bulele de aer, cheagurile, mizeria sau alte substanțe care ar putea influența corectitudinea rezultatelor analizelor sau controalelor și calibrărilor.

Operațiunea de Rinse este executată automat de către analizor sau la cererea utilizatorului.

În mod automat operațiunea de Rinse are loc între măsurarea standardului B și a standardului A în timpul calibrării, între măsurarea probei și a standardului A, precum și dacă în ultimele 10 minute nu am utilizat analizorul.

La cerere operațiunea de Rinse se realizează urmând etapele (tasta apasată corespunzătoare comenzii de pe ecran):

Tube	Cap.	Urin	Menu
↓			
Meniul principal			
Cal.	Meas.	QC	Serv.
↓			
Meniul de masurare			
Meas.	Mem.	Rinse	Esc.
↓			
Meniul Rinse			
Rinse	Cln	Purge	Esc.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale	COD: PSL – B5-03	
		pag. 16 din 26

La inițierea operațiunii de „Rinse” analizorul se încarcă și se spală cu standard A. La finalul operațiunii analizorul va afișa meniul Rinse.

Operațiunea de „Clean” este efectuată o dată la maxim 24 de ore. Dacă depășim acest interval analizorul afișează pe ecran mesajul „Clean”. Apăsăm tasta corespunzătoare, tubul de aspirare iese în exterior și este introdus într-un microtub conținând ISE CLEANING SOLUTION apoi apăsăm tasta „Fill”. După ce analizorul s-a oprit din aspirat, ștergem cu un tifon steril, lateral, tubul de aspirare și apăsăm tasta „Ready”. După finalizarea operațiunii de Clean analizorul efectuează automat o calibrare în două puncte. Când rezultatul calibrării este afișat analizorul este gata de utilizare.

Operațiunea de Clean la cererea operatorului o efectuăm în următorul mod (tasta apasată corespunzătoare comenzii de pe ecran):

Tube	Cap.	Urin	Menu
↓			
Meniul principal			
Cal.	Meas.	QC	Serv.
↓			
Meniul de masurare			
Meas.	Mem.	Rinse	Esc.
↓			
Meniul Rinse			
Rinse	CIn	Purge	Esc.
↓			
Introducerea tubului de aspirare într-un microtub cu ISE CLEANING SOLUTION			
Meniul Clean			
Fill		Esc.	
↓			
Ștergerea tubului de aspirare, lateral, cu un tifon steril după încetarea aspirării			
Meniul Clean			
Ready		Esc.	

Spălarea cu SODIUM CONDITIONER o efectuăm urmând aceiași pași ca pentru operațiunea de Clean, înlocuind ISE CLEANING SOLUTION cu SODIUM CONDITIONER.

4.5.2 Măsurarea propriuzisă

Măsurarea electrolitilor din ser, plasmă, sange integral (tasta apasată corespunzătoare comenzii de pe ecran):

Meniul principal

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
Laboratorul de analize medicale	COD: PSL – B5-03	
		pag. 17 din 26

Cal.	Meas.	QC	Serv.
------	--------------	----	-------



Meniul de masurare

Meas.	Mem.	Rinse	Esc.
--------------	------	-------	------



Tube	Cap.	Urin	Menu
-------------	------	------	------



Meniul de masurare

Fill	Info	Sens	Esc.
------	-------------	------	------



Introducere ID proba

<==>	↑	↓	Meas.
Mutarea cursorului	Crestere	Descrestere	Masurare



Introducerea tubului de aspirare in
vacutainerul sau microtubul cu proba

Meniul de masurare

Fill	Info	Sens	Esc.
-------------	------	------	------



Stergerea tubului de aspirare lateral cu un
tifon steril

Meniul de masurare

Ready	Esc.
--------------	------



Masurarea efectiva



Printarea rezultatelor

Măsurarea electrolitilor din urină

Probele de urina se dilueaza 1/5 cu diluent ISE Urine Diluent cod IN 0300. Analizorul măsoara sodiu, potasiu și clor din urina din 24 de ore.

Determinarea I.S.E. din urina (tasta apasata corespunzatoare comenzii de pe ecran):

Tube	Cap.	Urin	Menu
------	------	-------------	------



Introducerea dilutiei efectuate

<==>	↑	↓	Meas.
Mutarea cursorului	Crestere	Descrestere	Masurare



Meniul de masurare

Fill	Info	Sens	Esc.
------	-------------	------	------



Introducere ID proba

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr. pag. 18 din 26
--	--	---

<==>	^	v	Meas.
Mutarea cursorului	Crestere	Descrestere	Masurare
		↓	Introducerea tubului de aspirare in microtubul cu proba

Meniul de masurare

Fill	Info	Sens	Esc.
		↓	Stergem tubul de aspirare lateral cu un tifon umectat cu I.S.E. CLEANING SOLUTION

Meniul de masurare

Ready	Esc.
--------------	------

↓
Masurarea efectiva

↓
Printarea rezultatelor

Indicele „O” din dreptul rezultatelor semnalează că proba măsurată este urină.

4.5.3 Întreținerea echipamentelor

Operațiunile de întreținere ale analizorului Diestro 103 AP sunt efectuate de către utilizator și de către service conform planului de mentenanță.

Modul de completare a acestor înregistrări este descris în procedura generală PG-5.3 – Echipament de laborator.

4.5.4. Mesaje de eroare

Eroare	Descriere	Cauza posibilă	Efect	Acțiune
Not CALIB	Electrod necalibrat	Analizam caracterul care urmeaza dupa mesajul <i>Not CALIB</i>	Electrolitul respectiv nu poate fi masurat	Analizam caracterul care urmeaza dupa mesajul <i>Not CALIB</i> sau procedam ca in cazul erorii <i>Not Filled</i>
I	Nu exista stabilitate cand are loc masurarea standardelor in	Bule in circuitul lichidelor. Defectiunea electrodului. Defectiune in	In timpul calibrarii: electrolitul nu poate fi masurat. In timpul	Incercam masurarea altor probe. Verificam obstructiile de la

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 19 din 26

	timpul calibrării sau în timpul masurării probelor	canalul de masurare.	masurării probelor: rezultatele nu prezintă încădare.	nivelul tubulaturii și a electrozilor. Verificăm tubulatura și pompa
?	ADC în afara intervalului	Bule în circuitul lichidelor. Defecțiunea electrodului. Defecțiune în canalul de masurare.	În timpul calibrării: electrolitul nu poate fi măsurat. În timpul măsurării probelor: rezultatele nu prezintă încădare.	peristaltică. Schimbăm electrodul sau contactăm service-ul.
S	Panta prea mare sau prea mică	Bule în circuitul lichidelor. Defecțiunea electrodului. Defecțiune în canalul de masurare.	Electrolitul nu poate fi măsurat.	
!	Panta calibrării este inversată.	Standardele sunt contaminate sau nu corespund.	Electrolitii nu pot fi măsurați.	Verificăm conectarea corectă a tubulaturii care vine de la standarde. Curățăm și calibrăm. Înlocuim standardele.
Not filled	Proba nu a fost absorbită	Proba insuficientă. Proba cu coagul sau fibrina. Eroarea operatorului. Circuitul tubulaturii sau/si al electrozilor obstrucționat. Tubulatura peristaltică	Operațiunea în curs nu este completă.	Verificăm proba. Verificăm procesul de absorbție, dacă este obstrucționată tubulatura, tubul de absorbție, pompa peristaltică și electrozii. Verificăm

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 20 din 26

		defecta.		valvele.
Not Empty	Camera de masurare nu poate fi golita.	Circuitul tubulaturii sau al electrozilor este obstructionat. Tubulatura peristaltica defecta.	Operatiunea in curs nu este completa.	Inlocuim electrodul sau contactam service-ul.
Missing Pack	Nu recunoaste microcipul.	Microcipul nu este conectat.	Nu calibreaza. Nu masoara. Nu se curata.	Conectam microcipul. Contactam service-ul.
Invalid Pack	Kitul nu corespunde echipamentului.	Tip de kit incompatibil cu echipamentul.	Nu calibreaza. Nu masoara. Nu se curata.	Verificarea kitului. Contactarea service-ului.
Pack expired	Kitul a expirat.	Kit expirat sau data este gresit selectata.	Nu calibreaza. Nu masoara. Nu se curata	Verificam data. Inlocuim kitul. Contactam service-ul.
Pack Empty	Kitul este terminat.	Electronic kitul este considerat terminat.	Nu calibreaza. Nu masoara. Nu se curata	Inlocuim kitul. Contactam service-ul.
01	Eroare interna.	Hardware sau software.	Nu calibreaza. Nu masoara.	Contactam service-ul.
02	Eroare interna.	Hardware sau software.	Nu calibreaza. Nu masoara.	Contactarea service-ul.
C	Stabilizarea din timpul calibrarii intr-un punct difera de ultima calibrare in doua puncte.	Interferenta externa in timpul masurarii. Bule in circuitul lichidelor. Defectiunea electrodului.	Rezultatul nu este valid.	Repetam calibrarea sau masurarea. Verificam obstructionarea tubulaturii, electrozilor.
L	Stabilizarea din timpul calibrarii intr-un punct difera de cea de	Defectiune in canalul de masurare.		Verificam valvele si tubulatura acestora.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 21 din 26

	la ultima calibrare intr-un punct.	Impamantare proasta. Sursa de curent cu fluctuatii.		Inlocuim electrodul. Verificam posibilele interferente provenite de la celelalte echipamente. Contactam service-ul.
Q	Diferente mari in timpul procesului de masurare.			
u	Diferente mari in timpul calibrarii intr-un singur punct.			
U	Diferente mari in timpul stabilizarii probei.			

4.5.5 Atenționări

Măsuri de protecție a personalului

Toate produsele biologice și kit-urile de reactivi din laborator sunt tratate ca și cum ar fi potențial infectate.

Toate eșantioanele de sânge sau de produse biologice sunt puse în containere sigure care previn scurgerea și contaminarea feței exterioare a containerelor.

Toate persoanele care manipulează probe de sânge sau produse biologice (chiar și scoaterea dopului de la o eprubetă) poartă mănuși pentru a evita posibilitatea contactului cu lichidul biologic. Mănușile și mâinile se spală după terminarea lucrării respective.

Suprafețele de lucru din laborator sunt dezinfectate cu substanțe chimice adecvate după terminarea lucrului.

Materialele contaminate folosite în laborator sunt decontaminate înainte de a fi puse în saci sau containere în conformitate cu politica laboratorului referitoare la inactivarea materialului folosit.

Toate persoanele își spală mâinile după terminarea activității în laborator și își scot echipamentul de protecție (halat, papuci) înainte de părăsirea laboratorului.

Toate produsele biologice și kit-urile de reactivi din laborator sunt tratate ca și cum ar fi potențial infectate și personalul respectă următoarelor reguli de bioprotecție:

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 22 din 26

1. Suntem întotdeauna atenți - intrare controlată
- atenționarea riscului
- majoritatea bacteriilor manipulate în acest laborator sunt patogene pentru om

2. Purtăm echipamentul de protecție în spațiile de lucru :

- halat, mănuși
- pe toată durata lucrului
- la ieșire echipamentul de protecție îl abandonăm în

spațiul cu risc

3. Nu punem nimic în gură : - nu mâncăm, nu bem, nu fumăm, nu ne machiem în laborator

4. Nu punem obiecte personale pe masa de lucru :

- ochelari, mănuși, poșete, batiste etc
- nu utilizăm lentile de contact în spațiile considerate de

risc

5. Materialele infecte

- le decontaminăm înainte de evacuare cu soluții dezinfectante și detergenți
- le sterilizăm
- le evacuăm în containere dedicate

6. Decontaminăm suprafețele de lucru :

- cu soluții dezinfectante avizate și detergenți
- obligatoriu la încheierea lucrului

7. Evităm producerea de aerosoli

8. Ne spălăm pe mâini :

- cu apă și săpun ori de câte ori este nevoie și la sfârșitul programului de lucru

9. În caz de rănire accidentală: - anuțăm imediat șeful direct pentru acordarea de îngrijiri calificate și măsuri de urgență

10. Nu lucrăm cu leziuni cutanate neprotejate: - folosim comprese și bandaje sterile impermeabile

4.5.7 CONTROLUL DE CALITATE

4.5.7.1 Controlul intern de calitate

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 23 din 26

Efectuăm controlul intern la începutul lucrului cu ser de control pe 2 nivele.

Analizorul reține ultimele 22 de valori pentru care calculează media valorilor, deviația standard și coeficientul de variație. Astfel, rezultatele controlului intern pot fi interpretate și pot fi întreprinse eventuale acțiuni preventive și corective. Rezultatele de control sunt arhivate în memoria aparatului și sunt tipărite periodic.

Rezultatele QC sunt reprezentate grafic sub forma Diagramelor Levey Jeninngs care se interpreteaza conform procedurii PG 5.6.

4.5.7.2 Controlul extern de calitate

Laboratorul Spitalului Clinic de Boli Infectioase „Sf. Parascheva” Iasi participă la comparări interlaboratoare, în principal la programe de evaluare externă a calității internaționale. Rezultatele testării unor probe oarbe sunt trimise organizatorilor acestor programe care le interpretează statistic și le prezintă atât sub formă numerică, cât și sub formă grafică.

Sunt prezentate valorile următoarelor mărimilor statistice: media rezultatelor măsurărilor efectuate pe aceeași probă, deviația standard a acestor rezultate și coeficientul lor de variație.

Rezultatele laboratorului sunt comparate cu cele ale unor grupuri de comparație (grupul laboratoarelor cu aceeași metodă de determinare, grupul tuturor laboratoarelor participante etc.)

Rezultatele comparărilor interlaboratoare sunt analizate de către Șeful de departament și Managerul tehnic și în cazul identificării unor neconformități, se inițiază PG 5.9 – Identificarea și controlul neconformităților.

4.5.8 PROCESAREA REZULTATELOR

Înregistrarea probelor se face la recepție conform regulilor procedurii generale PG 5.4 – Proceduri preanalitice.

Calculul rezultatelor se face automat de către analizorul Diestro 103 AP care foloseste metoda ISE directa.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT	Editia 1
Laboratorul de analize medicale	COD: PSL – B5-03	Revizia 0
		Exemplar nr.
		pag. 24 din 26

4.5.9. RAPORTARE

Executăm raportarea rezultatelor conform PG 5.8, in softul medical, generindu-se automat buletinul de analiza

Rezultatele critice sunt înregistrate in Registrul de anunturi, cod RGL 4.7-01

TABEL CU VALORI DE REFERINȚĂ

Electrolit	Unitate de masura	Interval de referinta pentru ser
Sodiu	mmol/l	135 - 148
Potasiu	mmol/l	3.7 - 5.3
Clor	mmol/l	98 - 109
Calciu	mg/dl	4 - 5.6

TABEL CU VALORI DE ALERTĂ (CRITICE)

Electrolit	Unitate de masura	Valori critice scazute	Valori critice scazute
Sodiu	mmol/l	120	158
Potasiu	mmol/l	2.8	6.2
Clor	mmol/l	75	156
Calciu	mg/dl	3	6.4

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 25 din 26

5. RESPONSABILITĂȚI

5.1 MANAGERUL TEHNIC

- Stabilește împreună cu șeful de departament programul de control extern.
- Verifică și aprobă Buletinul de analiză.
- Asigură consultanță privind rezultatele analizelor atunci când beneficiarul o cere.

Notă : Pentru cazul în care este absent, este substituit de locuitorul său.

5.2 ȘEFUL DE DEPARTAMENT

- Stabilește programul de control intern și extern.
- Verifică și validează rezultatele controlului intern de calitate.
- Execută analizele pentru care este responsabil și validează prin semnătură rezultatele.
- Verifică și validează rezultatele obținute de către personalul din subordine.

5.3 RESPONSABILUL DE ANALIZĂ

- Recepționează produsele biologice de analizat
- Execută analizele pentru care este responsabil și validează prin semnătură rezultatele acestora, pe Buletinul de analize.
- Înscrie rezultatele analizelor de pe hârtia imprimantă în softul medical
- Validează rezultatele în softul medical.

5.4 INFIRMIERA

- Execută și întreține curățenia în laborator.
- Colectează și depozitează reziduurile de probe și deșeurile auxiliare, conform instrucțiunilor.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase”Sf.Parascheva,, Iași Laboratorul de analize medicale	PROCEDURA SPECIFICA DETERMINAREA ELECTROLITILOR PRIN METODA I.S.E. DIRECT COD: PSL – B5-03	Editia 1 Revizia 0 Exemplar nr.
		pag. 26 din 26

6. ÎNREGISTRĂRI ȘI ANEXE

- Rezultatele printate de catre echipament
- Rezultatele printate ale controlului intern de calitate
- Caiet de lucru, cod RSL-B5-03-01